



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115052626 A

(43) 申请公布日 2022. 09. 13

(21) 申请号 202080095495.4

(22) 申请日 2020.11.27

(30) 优先权数据

19306551.3 2019.12.03 EP

19306572.9 2019.12.04 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2022.08.02

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2020/083737 2020.11.27

(87) PCT国际申请的公布数据

W02021/110561 EN 2021.06.10

(71) 申请人 埃沃特克国际有限责任公司

地址 德国汉堡

申请人 赛诺菲

(72) 发明人 安托万·阿拉姆

(74) 专利代理机构 北京康信知识产权代理有限公司 11240

专利代理师 李杰

(51) Int.Cl.

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 31/20 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 47/68 (2006.01)

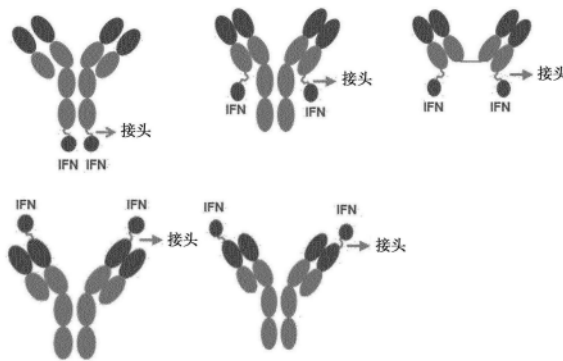
权利要求书2页 说明书83页
序列表113页 附图22页

(54) 发明名称

用于治疗乙型肝炎感染的干扰素相关抗原结合蛋白

(57) 摘要

本发明涉及用于在疗法中使用,更具体地用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染的新的干扰素相关抗原结合蛋白以及编码这些干扰素相关抗原结合蛋白的核酸和表达载体。本发明还涉及用于在疗法中使用,更具体地用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染的包含这些干扰素相关抗原结合蛋白或核酸或表达载体的药物组合物。本发明还提供了使用这些干扰素相关抗原结合蛋白或核酸或表达载体或药物组合物的治疗方法。所述新的干扰素相关抗原结合蛋白提供了优于本领域当前状态的有益改善,例如,其中它们有效破坏病毒复制并借此减少HBV病毒载量。



1. 一种用于在治疗乙型肝炎病毒 (HBV) 感染中使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 所述干扰素相关抗原结合蛋白包括

- (I) 激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段, 和
- (II) 干扰素 (IFN) 或其功能性片段。

2. 根据权利要求1所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, 所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含

(a) 重链或其片段, 所述重链或其片段包含与SEQ ID NO 56具有至少90%的同一性的互补决定区 (CDR) CDRH1、与SEQ ID NO 57具有至少90%的同一性的CDRH2以及与SEQ ID NO 58具有至少90%的同一性的CDRH3; 和

(b) 轻链或其片段, 所述轻链或其片段包含与SEQ ID NO 52具有至少90%的同一性的CDRL1、与SEQ ID NO 53具有至少90%的同一性的CDRL2以及与SEQ ID NO 54具有至少90%的同一性的CDRL3。

3. 根据权利要求1所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, 所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含

(a) 重链或其片段, 所述重链或其片段包含与SEQ ID NO 56相同的互补决定区 (CDR) CDRH1、与SEQ ID NO 57相同的CDRH2以及与SEQ ID NO 58相同的CDRH3; 和

(b) 轻链或其片段, 所述轻链或其片段包含与SEQ ID NO 52相同的CDRL1、与SEQ ID NO 53相同的CDRL2以及与SEQ ID NO 54相同的CDRL3。

4. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, 所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含: 轻链可变区 V_L , 所述轻链可变区 V_L 包含SEQ ID NO 51中所示序列或与其具有至少90%的同一性的序列; 和/或重链可变区 V_H , 所述重链可变区 V_H 包含SEQ ID NO 55中所示序列或与其具有至少90%的同一性的序列。

5. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, 所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含: 轻链 (LC), 所述轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列或与其具有至少90%的同一性的序列; 和/或重链 (HC), 所述重链包含选自自由SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 49和SEQ ID NO 48组成的组的序列或与其具有至少90%的同一性的序列。

6. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, IFN或其功能性片段选自自由I型IFN、II型IFN和III型IFN或它们的功能性片段组成的组。

7. 根据权利要求6所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, 所述I型IFN或其功能性片段是IFN α 或IFN β 或它们的功能性片段。

8. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, IFN或其功能性片段是IFN α 2a或其功能性片段, 并且其中, 优选地, 所述IFN α 2a包含SEQ ID NO 17中所示序列或与其具有至少90%的同一性的序列。

9. 根据权利要求1至7中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, IFN或其功能性片段是IFN β 或其功能性片段, 并且其中, 优选地, 所述IFN β 包含SEQ ID NO 14中所示序列或与其具有至少90%的同一性的序列。

10. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中, IFN或其功能性片段被融合至所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链, 优

选地融合至C-末端。

11. 根据权利要求1至9中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白,其中,IFN或其功能性片段被融合至所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链,优选地融合至C-末端。

12. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白,其中,所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段与IFN或其功能性片段通过接头彼此融合,并且其中,优选地,所述接头包括SEQ ID NO 20、SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO25或SEQ ID NO 26中所示序列。

13. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白,其中,所述干扰素相关抗原结合蛋白是干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的激动性抗-CD40抗体的激动性抗原结合片段,所述干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的激动性抗-CD40抗体的激动性抗原结合片段包含表9、特别地表9A或表9B、更特别地表9A中公开的序列组合之一。

14. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白,其中,所述使用包括通过利用编码所述干扰素相关抗原结合蛋白的RNA或DNA序列、或编码所述干扰素相关抗原结合蛋白的载体或载体体系的基因递送,向对其有需要的受试者施用所述干扰素相关抗原结合蛋白。

15. 根据前述权利要求中任一项所述的用于使用的干扰素相关抗原结合蛋白,其中,所述干扰素相关抗原结合蛋白包含在药物组合物中。

用于治疗乙型肝炎感染的干扰素相关抗原结合蛋白

技术领域

[0001] 本发明涉及用于在疗法中使用,更具体地用于治疗乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的新的干扰素相关 (interferon-associated) 抗原结合蛋白以及编码这些干扰素相关抗原结合蛋白的核酸和表达载体。本发明还涉及用于在疗法中使用,更具体地用于治疗乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的包含这些干扰素相关抗原结合蛋白或核酸或表达载体的药物组合物。本发明还提供了使用这些干扰素相关抗原结合蛋白或核酸或表达载体或药物组合物的治疗方法。所述新的干扰素相关抗原结合蛋白提供了优于本领域当前状态的有益改善,例如,其中它们有效破坏病毒复制并借此减少HBV病毒载量 (viral load)。

背景技术

[0002] HBV感染全世界超过3亿人并且是造成肝脏疾病和肝癌的常见原因 (Liang (2009) Hepatology 49:S13)。HBV是具有类似于反转录病毒的不常见特征的小DNA病毒,其通过RNA中间体 (前基因组RNA, pgRNA) 复制并且可以整合到宿主基因组中。HBV复制循环的独特特征赋予病毒在感染细胞中持续的独特能力。HBV感染导致了从急性肝炎 (包括暴发性肝衰竭) 到慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌的一系列广谱肝脏疾病。急性HBV感染可以是无症状的或者呈现有症状的急性肝炎。90-95%的感染HBV的儿童和5-10%的感染HBV的成年人不能清除病毒并且成为慢性感染。多位慢性感染者具有轻微肝脏疾病,其几乎没有长期发病或死亡。患有慢性HBV感染的其他个体出现活动性疾病,其可以发展成肝硬化和肝癌。这些患者需要小心监测和批准的治疗干预。

[0003] 需要通过调节细胞中HBV感染用于治疗HBV感染的新方法。具体地,需要有效破坏病毒复制,减少HBV感染细胞的HBV病毒载量,减少HBV感染细胞中共价闭环HBV DNA的转录和/或减少HBV感染细胞中前基因组HBV RNA的量的方法。

发明内容

[0004] 本发明涉及用于治疗乙型肝炎病毒 (HBV) 感染的干扰素相关抗原结合蛋白,其包含 (I) 激动性 (agonistic) 抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段,和 (II) 干扰素 (IFN) 或其功能性片段。

[0005] 根据本发明的这个方面,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段可以包含 (a) 重链或其片段,其包含与SEQ ID NO 56具有至少90%的同一性的互补决定区 (CDR) CDRH1、与SEQ ID NO 57具有至少90%的同一性的CDRH2和与SEQ ID NO 58具有至少90%的同一性的CDRH3;和 (b) 轻链或其片段,其包含与SEQ ID NO 52具有至少90%的同一性的CDRL1、与SEQ ID NO 53具有至少90%的同一性的CDRL2和与SEQ ID NO 54具有至少90%的同一性的CDRL3。可替代地,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段可以包含 (a) 重链或其片段,其包含与SEQ ID NO 56相同的互补决定区 (CDR) CDRH1、与SEQ ID NO 57相同的CDRH2和与SEQ ID NO 58相同的CDRH3;和 (b) 轻链或其片段,其包含与SEQ ID NO 52相同的CDRL1、与SEQ ID NO 53相同的CDRL2和与SEQ ID NO 54相同的CDRL3。

[0006] 根据一个实施方式,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO 51中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列的轻链可变区V_L;和/或含有SEQ ID NO 55中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列的重链可变区V_H。

[0007] 根据另一个实施方式,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含:含有SEQ ID NO 3中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列的轻链(LC);和/或含有选自SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49和SEQ ID NO 48组成的组的序列或与之具有至少90%的同一性的序列的重链(HC)。

[0008] 根据其它实施方式,IFN或其功能性片段可以选自由I型IFN、II型IFN和III型IFN或其功能性片段组成的组。优选地,I型IFN或其功能性片段是IFN α 或IFN β 或其功能性片段。

[0009] 根据另一个实施方式,IFN或其功能性片段是IFN α 2a或其功能性片段。根据优选实施方式,IFN α 2a包含SEQ ID NO 17中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0010] 根据另一个实施方式,IFN或其功能性片段是IFN β 或其功能性片段。在优选的实施方式中,IFN β 包含SEQ ID NO 14中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0011] 根据另一个实施方式,将IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体的轻链或其激动性抗原结合片段,优选地融合至C-末端。

[0012] 根据其它实施方式,将IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体的重链或其激动性抗原结合片段,优选地融合至C-末端。

[0013] 根据另一个实施方式,将激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段和IFN或其功能性片段通过接头彼此融合。在优选的实施方式中,接头包含SEQ ID NO 20、SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或者SEQ ID NO 26中所示序列。

[0014] 根据另一个实施方式,干扰素相关抗原结合蛋白是包含表9中所公开的序列组合之一的干扰素融合的(interferon-fused,融合干扰素的)激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0015] 根据另一个实施方式,所述用途包括通过编码干扰素相关抗原结合蛋白的RNA或DNA序列或编码干扰素相关抗原结合蛋白的载体或载体体系的基因递送(genetic delivery,遗传递送),向对其有需要的受试者施用干扰素相关抗原结合蛋白。

[0016] 根据另一个实施方式,干扰素相关抗原结合蛋白包含在药物组合物中。

附图说明

[0017] 图1:该示意图显示了示例性干扰素相关抗原结合蛋白形式(format)。干扰素相关抗原结合蛋白是干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。IFN通过接头结合至抗体或其抗原结合片段上的不同位置:轻链(LC)或重链(HC)的N末端或C末端部分。具体地,IFN选自I型、II型和III型干扰素家族。

[0018] 图2A显示了受pCMV启动子控制的编码SEQ ID NO 32的pcDNA3.1质粒的示例性图谱(map)。右侧还显示了编码SEQ ID NO 32(SEQ ID NO 78)的核酸序列。斜体:信号肽序列;黑色:CP870,893重链编码序列;下划线:HL接头编码序列;加粗:IFN β 编码序列。

[0019] 图2B显示了还原条件下一些IFA的SDS PAGE的实例,其中在重链或轻链融合IFN α 或IFN β 。左侧还显示了亲代CP870,893的迁移。

[0020] 图3A-3B图示地显示了一些具有IFN β 融合的IFA分子对HEK-Blue™ CD40L细胞中激

活CD40-介导的NF κ B通路报告测定的剂量依赖性影响。图3A显示了对于具有融合至重链(HC)的C末端部分的IFN β 的IFA的抗-CD40活性的实例。图3B显示了对于具有融合至LC(IFA34)或HC(IFA36)的N末端部分的IFN β 的IFA和具有C末端部分上的相应融合的IFA(IFA35和IFA37)的抗-CD40活性的实例。后一组IFA的纯化得率极低,因此为了测试它们的活性,使用了来自HEK转染的细胞的上清液并依次稀释以评价对HEK-BlueTMCD40L细胞的抗-CD40活性。

[0021] 图3C-3D图示地显示了一些具有IFN β 融合的IFA分子对HEK-Blue-IFN- α/β 报告细胞中激活I型IFN-通路的剂量依赖性影响。图3C显示了对于具有融合至HC的C末端部分的IFN β 的IFA的IFN活性的实例。图3D显示了对于具有融合至LC(IFA34)或HC(IFA36)的N末端部分的IFN β 的IFA和具有C末端部分上的相应融合的IFA(IFA35和IFA37)的IFN活性的实例。使用了与图3B中相同的来自HEK转染细胞的上清液并依次稀释以评价IFN活性。将亲代抗体CP870,893用作阴性对照并且将重组人IFN β 用作阳性对照。NS:未刺激的。

[0022] 图4A图示地显示了一些具有IFN α 融合的IFA分子对HEK-BlueTMCD40L细胞中激活CD40-介导的NF κ B通路报告测定的剂量影响。

[0023] 图4B图示地显示了一些具有IFN α 融合的IFA分子对HEK-Blue-IFN- α/β 报告细胞中激活I型IFN-介导的通路的剂量影响。在右下角的插图中显示了Pegasys活性。

[0024] 图4C图示地显示了在HC(IFA38)或LC(IFA39)上具有IFN α 融合和HL接头的IFA分子对HEK-BlueTMCD40L细胞中激活CD40-介导的NF κ B通路报告测定的影响。

[0025] 图4D图示地显示了IFA38和IFA39对HEK-Blue-IFN α/β 报告细胞中激活I型IFN-通路的影响。

[0026] 图5显示了IFN β 基IFA(IFN β based IFA)以剂量依赖性方式对感染HBV的原代肝细胞的HBeAg释放的影响。IFA1、IFA12:IFN β 分别通过HL或RL接头向LC的C-末端的融合。IFA2和IFA13:IFN β _C17S分别通过HL或RL接头向LC的C-末端的融合。

[0027] 图6A显示了IFA25、IFA26和IFA27以剂量依赖性方式对感染HBV的原代人肝细胞的HBeAg释放的影响。

[0028] 图6B显示了IFA28、IFA29和IFA30以剂量依赖性方式对感染HBV的原代人肝细胞的HBeAg释放的影响。

[0029] 图6C显示了具有HL接头的IFA(IFA38和IFA39)对HBV-感染的PHH的剂量反应抗-病毒活性(dose response anti-viral activity)(HBeAg释放)。

[0030] 图6D-6H显示了4个具有通过肽接头向IFN α 的融合的IFA分子对感染HBV的原代人肝细胞的剂量反应抗-病毒活性。图6D:显示研究设计的动画。图6E:与Pegasys相比,IFA对HBeAg释放的影响。图6F:与Pegasys相比,IFA对HBsAg释放的影响。图6G:与Pegasys相比,IFA对pgRNA水平的影响。图6H:与Pegasys相比,IFA对CXCL10释放的影响。

[0031] 图7显示了来自人全血细胞(WBC)的体外细胞因子释放测定的结果:来自4位健康志愿者供体的WBC的刺激后所获得的数据的实例。WBC保持未刺激(NS),用LPS(10ng/mL)或用IFA1(1 μ g/mL)处理24h。收集上清液并使用MSD u-Plex试剂盒对人细胞因子进行细胞因子释放定量。结果代表了来自每个供体的两个独立刺激的平均值。显示了CXCL10(IP10)、IL6、IL1 β 和TNF α 的谱图。

[0032] 表11a-b:这些表总结了在得自健康志愿者的全血细胞(WBC)体外刺激之后获得的

数据。对来自4位不同供体的WBC测试每个IFA。WBC保持未处理(NT),用LPS(10ng/mL)或用IFA(1 μ g/mL)处理24h。收集上清液并使用MSD u-Plex试剂盒对人细胞因子进行细胞因子释放定量。结果代表来自每位供体的两个独立刺激的平均值并且以pg/mL表示(nd:未检出)。

[0033] 图8:在向小鼠静脉内推注0.5mg/kg(IFA)或0.3mg/kg(Pegasys)后IFA25、IFA26、IFA27、IFA28、IFA29和IFA30的药物动力学谱。数据表示为半对数坐标上的平均值 \pm SD。收集施用后长达10天的样品。将使用抗-IFN α 作为用于定量方法的第二抗体的ELISA测定用于IFA27、IFA29和IFA30(图8A)和IFA25、IFA26和IFA28(图8B)。将使用抗-IgG2作为用于定量方法的第二抗体的ELISA测定用于IFA25和IFA27(图8C)。图8D:使用人IFN α 匹配的抗体对进行Pegasys定量。标线(LL0Q)表示Pegasys测定的检测限。

[0034] 表12A:PK报告总结:向雄性CD1瑞士(Swiss)小鼠单次静脉内施用0.5mg/kg后的CP870,893、IFA27、IFA29和IFA30的PK参数。在7-天实验中研究了CP870,893的PK参数并且在10-天实验中研究了IFA27、IFA29和IFA30的那些PK参数(使用2种不同的ELISA方法进行IFA27定量)。

[0035] 表12B:PK报告总结:向雄性CD1瑞士小鼠单次静脉内推注施用0.5mg/kg后的CP870,893、Pegasys和3种不同的IFA(IFA25、IFA26和IFA28)的PK参数。在21-天实验中研究了CP870,893和IFA25、IFA26、IFA28和Pegasys的PK参数(使用2种不同的ELISA方法进行IFA25定量)。

[0036] 图9A显示了在HEK-BlueTMCD40L报告细胞中,与亲代抗-CD40抗体相比,没有Fc区的IFA50和IFA51以剂量依赖性方式的CD40激动性活性。图9B显示了在HEK-BlueTMhIFN- α / β 报告细胞中IFA50和IFA51以剂量依赖性方式的IFN α 活性。图9C:IFA50和IFA51对HBV-感染的PHH的HBeAg释放的影响。

[0037] 图10A显示了在HEK-BlueTMCD40L报告细胞中,与亲代抗-CD40抗体相比,IFN ϵ 基IFA49以剂量依赖性方式的CD40激动性活性。IFA49对应于IFN ϵ 通过肽接头向HC的融合。图10B显示了IFA49对通过I型干扰素激活的HEK-BlueTMhIFN- α / β 报告细胞以剂量依赖性方式的IFN活性。图10C:IFA49对HBV-感染的PHH的HBeAg释放的影响。

[0038] 图11A显示了在HEK-BlueTMCD40L报告细胞中,与亲代抗-CD40抗体相比,IFN ω 基IFA46以剂量依赖性方式的CD40激动性活性。IFA46对应于IFN ω 通过肽接头向LC的融合。图11B显示了IFA46对通过I型干扰素激活的HEK-BlueTMhIFN- α / β 报告细胞以剂量依赖性方式的IFN活性。图11C:IFA46对HBV-感染的PHH的HBeAg释放的影响。

[0039] 图12A显示了在HEK-BlueTMCD40L报告细胞中,与亲代抗-CD40抗体相比,IFN γ 基IFA(IFA42和IFA43)以剂量依赖性方式的CD40激动性活性。IFA42对应于IFN γ 通过肽接头向LC的融合,并且IFA43对应于IFN γ 通过肽接头向HC的融合。图12B显示了在HEK-Blue-hIFN γ 报告细胞中IFA42和IFA43以剂量依赖性方式的IFN活性;图12C:IFA42和IFA43对HBV-感染的PHH的HBeAg释放的影响。

[0040] 图13A显示了在HEK-BlueTMCD40L报告细胞中,与亲代抗-CD40抗体相比,IFN λ 基IFA(IFA44和IFA45)以剂量依赖性方式的CD40激动性活性。IFA44对应于IFN λ 通过肽接头向LC的融合,并且IFA45对应于IFN λ 通过肽接头向HC的融合。图13B显示了在HEK-Blue-hIFN λ 报告细胞中IFA44和IFA45以剂量依赖性方式的IFN活性。图13C:IFN λ 基IFA(IFA44和IFA45)对HBV-感染的PHH的HBeAg释放的影响。

[0041] 图14显示了还原条件下一些IFA的SDS PAGE的实例,其中IFN α 或IFN β 在3G5-抗CD40抗体的重链上融合。左侧还显示了亲代3G5抗CD40抗体的迁移。

[0042] 图15A-B图示地显示了一些具有IFN β 融合的3G5-基IFA分子对HEK-BlueTMCD40L细胞中激活CD40-介导的NF κ B通路报告测定的剂量依赖性影响。同样地显示了与亲代抗体3G5(在该图中表示为CDX-3G5)的比较。图15A显示了对于具有融合至重链(HC)的C末端部分的IFN β 的IFA的抗-CD40活性的实例。具有轻链上IFN β 融合的IFA的纯化得率极低,因此为了测试它们的活性,使用来自HEK转染细胞的上清液并依次稀释以评价对HEK-BlueTMCD40L细胞的抗-CD40活性;图15B中显示了活性的实例,并且将含有3G5的上清液用作对照。

[0043] 图15C-D图示地显示了一些具有IFN β 融合的IFA分子对HEK-Blue-IFN- α/β 报告细胞中激活I型IFN-通路的剂量依赖性影响。图15C显示了对于具有融合至HC的C末端部分的IFN β 的IFA的IFN活性的实例。图15D显示了具有轻链上融合的IFN β 的IFA的IFN活性;这些蛋白的生产水平极低并因此使用与图15B中相同的上清液,在图15D中显示了两种IFA的活性的实例。

[0044] 图16A图示地显示了4个具有IFN α 融合的IFA分子对HEK-BlueTMCD40L细胞中激活CD40-介导的NF κ B通路报告测定的剂量影响。同样地显示了与亲代抗体3G5(在该图中表示为CDX-3G5)的比较。

[0045] 图16B图示地显示了一些具有IFN α 融合的IFA分子对HEK-Blue-IFN- α/β 报告细胞中激活I型IFN-介导的通路的剂量影响。

[0046] 图17显示了I型IFN基IFA以剂量依赖性方式对感染HBV的PHH的HBeAg释放的影响。图17A显示了使用具有向HC的C末端部分融合的IFN β 的IFN β 基IFA(IFA106、IFA107、IFA108和IFA109)所获得的结果。图17B显示了使用具有向HC的C末端部分融合的IFN α 的4个IFN α 基IFA(IFA121、IFA122、IFA123和IFA124)所获得的结果。NI-NT:未感染、未处理。MOI:感染复数(multiplicity of infection)。

[0047] 图18:人全血细胞(WBC)的体外细胞因子释放测定:在来自4位健康志愿者供体的WBC的刺激后所获得的数据的实例。WBC保持未处理(NT),用LPS(10ng/mL)或用IFA109(1 μ g/mL)处理24h。收集上清液并使用MSD u-Plex试剂盒对人细胞因子进行细胞因子释放定量。结果代表了来自每个供体的两个独立刺激的平均值。显示了CXCL10(IP10)、IL6、IL1 β 和TNF α 的谱图。

[0048] 表13:该表总结了在得自健康志愿者的全血细胞的体外刺激之后获得的数据。对来自4位不同供体的WBC测试了IFA109。WBC保持未处理(NT),用LPS(10ng/mL)或用IFA109(1 μ g/mL)处理24h。收集上清液并使用MSD u-Plex试剂盒对人细胞因子进行细胞因子释放定量。结果代表来自每位供体的两个独立刺激的平均值并且以pg/mL表示(nd:未检出)。

[0049] 结合附图,根据下列说明性实施方式的详细说明,将更完整地理解本发明的上述及其它特征和优势。

具体实施方式

[0050] 本发明部分基于以下疗法的发现,所述疗法基于包含(I)激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段和(II)干扰素(IFN)或其功能性片段的“干扰素相关抗原结合蛋白”、其变体或衍生物在乙型肝炎病毒(HBV)疗法中的使用。所述干扰素相关抗原结合蛋白抑制

HBV-感染的细胞中乙型肝炎病毒共价闭环DNA(cccDNA)向前基因组HBV RNA(pgRNA)的转录,抑制乙型肝炎e-抗原(HBeAg)从HBV-感染的细胞中的释放,以及在未感染和HBV感染肝细胞,具体地未感染和HBV感染原代人肝细胞中并且以协同方式增强IFN通路。提供了包括向HBV-感染细胞或感染HBV的受试者施用干扰素相关抗原结合蛋白的HBV疗法。

[0051] 根据以下定义的所选术语,可以更容易地理解本发明。

[0052] 如本文所使用的,术语“CD40”是指“分化簇40”,它是肿瘤坏死因子受体(TNFR)超家族的成员。CD40是存在于抗原呈递细胞(例如,B细胞、树突状细胞、单核细胞)、造血前体、内皮细胞、平滑肌细胞、上皮细胞以及大部分人肿瘤上的共刺激蛋白(Grewal&Flavell, Ann.Rev.Immunol.,1996,16:111-35;Toes&Schoenberger,Seminars in Immunology, 1998,10(6):443-8)。T_H细胞上天然配体CD154(CD40L)与CD40的结合激活抗原呈递细胞并诱导多种下游效应。TNF-受体相关因子衔接蛋白TRAF1、TRAF2、TRAF6和TRAF5与CD40相互作用并用作信号转导介体。最终,CD40信号转导激活了典型和非典型NF- κ B通路两者。

[0053] 激动性抗-CD40抗体及其抗原结合片段

[0054] 如本文所使用的,术语“抗体”是指包含通过二硫键互相连接的4条多肽链,两条重(H)链和两条轻(L)链的免疫球蛋白分子及其多聚体(例如,IgM)。每条重链包含重链可变区(缩写V_H或V_H)和重链恒定区(CH或C_H)。重链恒定区包含3个结构域,CH1、CH2和CH3。每条轻链包含轻链可变区(缩写V_L或V_L)和轻链恒定区(CL或C_L)。轻链恒定区包括1个结构域(CL1)。V_H和V_L区可以进一步再分成高变区,称为“互补决定区(CDR)”,其散布着更保守的区域,称为“框架区”(FR)。每个V_H和V_L由3个CDR和4个FR组成,其从氨基-末端到羧基-末端按以下顺序布置:FR1、CDR1、FR2、CDR2、FR3、CDR3、FR4。框架区可以帮助维持CDR的正确构象以促进抗原结合区和抗原之间的结合。

[0055] 最常用于治疗应用的免疫球蛋白是免疫球蛋白G(或者IgG),它是四聚体糖蛋白。在天然存在的免疫球蛋白中,每个四聚体由相同的两对多肽链组成,每对具有一条轻链(约25kDa)和一条重链(约50-70kDa)。每条链的氨基-末端部分包括约100至110或更多个氨基酸的可变区,其主要负责抗原识别。每条链的羧基-末端部分定义了主要负责效应因子功能的恒定区。基于它们的重链的恒定域的氨基酸序列,免疫球蛋白可以分成不同类型。

[0056] 将重链分类为缪(μ)、德尔塔(δ)、伽玛(γ)、阿尔法(α)和伊普西龙(ϵ)并且将抗体同种型分别定义为IgM、IgD、IgG、IgA和IgE。这些中的几个可以进一步被分成亚类或同种型,例如,IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1和IgA2。不同的同种型具有不同的效应因子功能;例如,IgG1和IgG3同种型具有抗体依赖性细胞毒性(ADCC)活性。在优选的实施方式中,包含在根据本发明的干扰素相关抗原结合蛋白中的激动性抗CD40抗体或其激动性抗原结合片段属于IgG类。在更优选的实施方式中,包含在根据本发明的干扰素相关抗原结合蛋白中的激动性抗CD40抗体或其激动性抗原结合片段属于IgG1或IgG3亚类。在特别优选的实施方式中,包含在根据本发明的干扰素相关抗原结合蛋白中的激动性抗CD40抗体或其激动性抗原结合片段属于IgG1亚类。在其它更优选的实施方式中,包含在根据本发明的干扰素相关抗原结合蛋白中的激动性抗CD40抗体或其激动性抗原结合片段属于IgG2或IgG4亚类。在特别优选的实施方式中,包含在根据本发明的干扰素相关抗原结合蛋白中的激动性抗CD40抗体或其激动性抗原结合片段属于IgG2亚类。

[0057] 将人轻链分为卡帕(κ)和拉姆达(λ)轻链。因此,在一些实施方式中,包含在根据本

发明的干扰素相关抗原结合蛋白中的激动性抗CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含 κ 类轻链。在其它实施方式中,包含在根据本发明的干扰素相关抗原结合蛋白中的激动性抗CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含 λ 类轻链。在轻链和重链内,通过约12个或更多氨基酸的“J”区连接可变区和恒定区,其中重链还包括约10个或更多氨基酸的“D”区。通常,参见,Fundamental Immunology,第7章(Paul,W.主编,第2版,Raven Press,N.Y.(1989))。

[0058] 术语“抗体”进一步包括但不限于单克隆抗体、双重特异性抗体、微抗体、域抗体、合成抗体(有时也称为“抗体模拟物”)、嵌合抗体、人源化抗体、人抗体及其各自的片段。除非另外说明,否则术语“抗体”除了包含两条全长重链和两条全长轻链的抗体外,还包括其衍生物、变体、抗原结合片段和突变蛋白,以下描述了它们的实例。

[0059] 如本文所使用的,术语“激动性CD40抗体”或“激动性抗-CD40抗体”是指结合至CD40并介导CD40信号转导的抗体。在优选的实施方式中,它结合至人CD40。如以下所描述的,可以使用表面等离子共振,优选地使用BIAcore®系统确定对CD40的结合。当添加至表达CD40的细胞、组织或生物中时,激动性抗-CD40抗体可以将一种或多种CD40活性提高至少约20%。在一些实施方式中,抗体将CD40活性激活至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或者至少85%。可以使用全血表面分子上调测定或者使用体外报告细胞测定,例如,使用HEK-Blue™CD40L细胞(InvivoGen产品目录#:hkb-cd40)测量激动性抗-CD40抗体的CD40活性,如实施例I中更详细地描述的。通过用人CD40基因和NF κ B-诱导型分泌性胚胎碱性磷酸酶(SEAP)构建体稳定转染HEK293细胞产生这些报告细胞以测量CD40激动剂的活性。CD40的刺激导致NF κ B激活并因此产生SEAP,其可以使用发色底物,如QUANTI-Blue™在上清液中检测。

[0060] 在本发明的背景中,干扰素相关抗原结合蛋白激活CD40和IFN通路两者。在某些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白以小于400、300、200、150、100、70、60、50、40、30、25、20或15ng/mL的EC₅₀激活CD40通路。在更具体的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白以10至200ng/mL范围内的EC₅₀激活CD40通路。在更具体的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白以10至50ng/mL,优选10至30ng/mL范围内的EC₅₀激活CD40通路。

[0061] 适合的激动性抗-CD40抗体的实例包括但不限于CP870,893(Pfizer/Roche)、SGN-40(Seattle Genetics)、ADC-1013(Janssen/Alligator BioSciences)、Chi Lob 7/4(University of Southampton)、达西组单抗(dacetumumab)(Seattle Genetics)、APX005M(Apexigen,Inc.)、3G5(Celldex)和CDX-1140(Celldex)。表7中显示了激动性抗-CD40抗体CP870,893的示例性轻链和重链序列。表8中显示了激动性抗-CD40抗体3G5的示例性轻链和重链序列。

[0062] 如本文所使用的,术语激动性抗-CD40抗体的“激动性抗原结合片段”是指保留原始抗体的一种或多种功能性活性的激动性抗-CD40抗体的片段,所述功能性活性如结合至并起到细胞中CD40信号转导激动剂作用的能力,例如,它介导CD40通路信号转导。该片段可以与全抗体竞争对CD40的结合。

[0063] 可以通过重组DNA技术产生或者可以通过抗-CD40抗体的酶促或化学切割产生激动性抗-CD40抗体的激动性抗原结合片段。激动性抗原结合片段包括但不限于Fab片段、双链抗体(与轻链可变域相同的多肽上的重链可变域,通过太短而不允许相同链上的两个结构域之间配对的短肽接头连接)、Fab'片段、F(ab')₂片段、Fv片段、结构域抗体和单链抗体

并且可以来源于任何哺乳动物来源,其包括但不限于人、小鼠、大鼠、骆驼科动物或兔。

[0064] 术语“可变区”或“可变域”是指抗体的轻链和/或重链部分,通常包括重链中约氨基-末端120至130个氨基酸和轻链中约100至110个氨基末端氨基酸。不同抗体的可变区在氨基酸序列中广泛不同,即使在来源于相同种或相同类的抗体中。表1中显示了激动性抗-CD40抗体CP870,893的示例性V_L和V_H域序列。因为它含有CDR,因此抗体的可变区通常确定特定抗体对其靶标的特异性。表1还显示了激动性抗-CD40抗体CP870,893的示例性CDR序列。

[0065] 表1. 激动性抗-CD40抗体CP870,893的抗-CD40抗体重/轻链可变区和CDR。粗斜体序列对应于根据Kabat定义的CDR区。

抗-CD40 抗体区	序列
抗 CD40 抗体 V _L 域 (SEQ ID NO 51)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRAS QGIYSW LAWY QQKPGKAPNLLIY TASTLQ SGVPSRFSGSGSGTDFTL TISSLQPEDFATYYC QQANIFPLT FGGGTKVEIK
[0066] 抗 CD40 抗体 CDRL1 (SEQ ID NO 52)	RASQGIYSWLA
抗 CD40 抗体 CDRL2 (SEQ ID NO 53)	TASTLQS
抗 CD40 抗体 CDRL3 (SEQ ID NO 54)	QQANIFPLT
抗 CD40 抗体 V _H 域 (SEQ ID NO 55)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC KASGYTFTGYMH WVRQAPGQGLEWMG WINPDSGGTNYAQKFQ GRVT MTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYC ARDQPLGY CTNGVCSYFDY WGQGLTIVTSS
[0067] 抗 CD40 抗体 CDRH1 (SEQ ID NO 56)	TGYMH
抗 CD40 抗体 CDRH2 (SEQ ID NO 57)	WINPDSGGTNYAQKFQ
抗 CD40 抗体 CDRH3 (SEQ ID NO 58)	DQPLGYCTNGVCSYFDY

[0068] 可以通过解出抗体结构和/或解出抗体-配体复合物的结构来完成CDR的示意图和包含抗体结合位点的残基的鉴定。这可以通过本领域技术人员已知的任何多种技术,如X射线晶体学来实现。可以使用多种分析方法来识别或近似CDR区。这些方法的实例包括但不限于Kabat定义、Chothia定义、AbM定义和接触定义。

[0069] Kabat定义是对抗体中残基编号的标准并且通常用于识别CDR区。参见,例如,Johnson&Wu,Nucleic Acids Res.,28:214-8(2000)。Chothia定义类似于Kabat定义,但是Chothia定义考虑了某些结构环区的位置。参见,例如,Chothia等人,J.Mol.Biol.,196:901-17(1986);Chothia等人,Nature,342:877-83(1989)。AbM定义使用了通过Oxford Molecular Group产生的对抗体结构建模的计算机程序集成套装。参见,例如,Martin等人,Proc Natl Acad Sci(USA),86:9268-9272(1989);“AbMTM,对抗体的可变区建模的计算机程序(A Computer Program for Modeling Variable Regions of Antibodies)”Oxford,UK;Oxford Molecular,Ltd.AbM定义使用知识数据库和从头开始方法的组合从一级序列对抗体三级结构建模,如通过Samudrala等人,“使用组合的层级分析法从头预测蛋白结构(Ab Initio Protein Structure Prediction Using a Combined Hierarchical Approach)”在蛋白、结构、功能和遗传学附录(PROTEINS,Structure,Function and Genetics

Suppl.), 3:194-198 (1999) 中所述的那些。接触定义基于可得的复合物晶体结构的分析。参见,例如,MacCallum等人, *J.Mol.Biol.*, 5:732-45 (1996)。

[0070] 在某些实施方式中,可以将激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链和重链可变区的互补决定区(CDR)移植到来自相同或另一个种的框架区(FR)。在某些实施方式中,可以将激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链和重链可变区的CDR移植到共有人FR。为了产生共有人FR,在某些实施方式中,将来自几个人重链或轻链氨基酸序列的FR比对以识别共有氨基酸序列。在某些实施方式中,用来自不同重链或轻链的FR替代激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链或重链的FR。在某些实施方式中,不替换激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链和重链的FR中的稀有氨基酸,而替换其余FR氨基酸。稀有氨基酸是处于FR中它们通常不被发现的位置处的特定氨基酸。在某些实施方式中,可以与不同于激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的恒定区的恒定区一起使用来自激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的移植可变区。在某些实施方式中,移植可变区是单链Fv抗体的一部分。在以下文献中描述了CDR移植,例如,美国专利号6,180,370、6,054,297、5,693,762、5,859,205、5,693,761、5,565,332、5,585,089和5,530,101和Jones等人, *Nature*, 321:522-525 (1986); Riechmann等人, *Nature*, 332:323-327 (1988); Verhoeyen等人, *Science*, 239:1534-1536 (1988); Winter, *FEBS Letts.*, 430:92-94 (1998), 其出于任何目的作为参考并入本文。

[0071] “Fc”区通常包含含有抗体的C_H2和C_H3域的两个重链片段。通过两个或更多个二硫键和通过C_H3域的疏水相互作用将所述两个重链片段保持在一起。

[0072] “Fab片段”包含一条全长轻链以及一条重链的C_H1和可变区(V_H和C_H1区的组合在本文中被称为“fab区重链”)。

[0073] “Fab’片段”包含一条轻链和含有VH域和C_H1域以及C_H1和C_H2域之间的区域的一条重链的一部分,从而可以在两个Fab’片段的两条重链之间形成链间二硫键以形成F(ab’)₂分子。

[0074] “F(ab’)₂片段”含有两条轻链和含有C_H1和C_H2域之间的恒定区的一部分的两条重链,从而在两条重链之间形成了链间二硫键。因此,F(ab’)₂片段由通过两条重链之间的二硫键保持在一起的两个Fab’片段组成。

[0075] “Fv区”包含来自重链和轻链两者的可变区,但是缺少恒定区。

[0076] “单链抗体”是其中已通过柔性接头连接重链和轻链可变区以形成单一多肽链的Fv分子,其形成了抗原结合区。在国际专利申请公开号W088/01649和美国专利号4,946,778和美国专利号5,260,203中详细讨论了单链抗体,以上专利的公开内容作为参考并入。

[0077] “域抗体”是仅含重链可变区或轻链可变区的免疫功能性免疫球蛋白片段。在一些情况下,通过肽接头将两个或更多个V_H区共价连接在一起以产生二价域抗体。二价域抗体的两个V_H区可以靶向相同或不同的抗原。

[0078] 根据本发明的抗体或抗原结合蛋白,如干扰素相关抗原结合蛋白优选地以 $\leq 10^{-7}$ M的解离常数(K_d)结合至其靶标抗原。当K_d $\leq 5 \times 10^{-9}$ M时,抗体或抗原结合蛋白以“高亲和力”结合其抗原,并且当K_d $\leq 5 \times 10^{-10}$ M时,以“极高亲和力”结合其抗原。更优选地,抗体或抗原结合蛋白具有K_d $\leq 10^{-9}$ M。在一些实施方式中,解离速率(off-rate) $< 1 \times 10^{-5}$ 。在其它实施方式中,抗体或抗原结合蛋白将以约 10^{-9} M至 10^{-13} M之间的K_d结合至人CD40,并且在另一个实施

方式中,抗体或抗原结合蛋白将以 $K_d \leq 5 \times 10^{-10}$ 结合。如本领域技术人员将理解的,在一些实施方式中,任何或所有抗原结合片段可以结合至CD40。优选地,使用表面等离子共振,更优选地使用BIAcore®系统确定所述常数。

[0079] 术语“表面等离子共振”是指例如使用BIAcore®系统(BIAcore International AB, GE Healthcare公司,乌普萨拉,瑞典和皮斯卡塔韦(Uppsala, Sweden and Piscataway), N.J.)通过生物传感器基质内蛋白浓度变化的检测来分析实时生物特异性相互作用的光学现象。对于进一步的描述,参见Jönsson等人(1993) Ann. Biol. Clin. 51:19-26。术语“ K_{on} ”表示结合蛋白(例如,抗体或抗原结合蛋白)结合至抗原以形成例如抗原结合蛋白/抗原复合物的结合速率常数(on rate constant)。术语“ K_{on} ”或“结合速率”还表示“结合速率常数(association rate constant)”或“ k_a ”,如在本文中可互换使用。还通过以下方程显示了表示结合蛋白与其靶标抗原的结合速率或者结合蛋白,例如,抗体或抗原结合蛋白与抗原之间的复合物形成速率的值:

[0080] 抗体(“Ab”)+抗原(“Ag”)→Ab-Ag

[0081] 如本领域中已知的,术语“ K_{off} ”或“解离速率(off-rate)”表示结合蛋白(例如,抗体或抗原结合蛋白)从例如抗原结合蛋白/抗原复合物解离的解离速率常数(off rate constant)或“解离速率常数(dissociation rate constant)”。该值表示结合蛋白,例如,抗体或抗原结合蛋白从其靶标抗原的解离速率或者Ab-Ag复合物随时间分离成游离抗体和抗原的解离速率,如通过以下方程所示:

[0082] $Ab+Ag \leftarrow Ab-Ag$

[0083] 术语“ K_d ”和“平衡解离常数”表示在平衡滴定测量中所获得的值,或者通过用解离速率常数(K_{off})除以结合速率常数(K_{on})所得的值。结合速率常数、解离速率常数和平衡解离常数用于表示结合蛋白(例如,抗体或抗原结合蛋白)与抗原的结合亲和力。用于确定结合和解离速率常数的方法在本领域中是熟知的。使用荧光基技术提供了检验生理学缓冲液中处于平衡的样品的高灵敏度和能力。可以使用其它实验方法和仪器,如BIAcore®(生物分子互相作用分析)测定(例如,得自BIAcore International AB, GE Healthcare公司,乌普萨拉,瑞典的仪器)。另外,还可以使用得自Sapidyne Instruments(Boise, Id.)的KinExA®(动力学排除测定)测定。

[0084] 根据本发明的抗原结合蛋白可以以比对于第二靶标高至少一个数量级,优选地至少两个数量级的亲和力结合至一个靶标。

[0085] 术语“靶标”是指能够通过抗原结合蛋白结合的分子或分子部分。在某些实施方式中,靶标可以具有一个或多个表位。因此,将理解靶标可以用作本发明的“抗原结合蛋白”的“抗原”。

[0086] 术语“表位”包括能够通过抗原结合蛋白,如抗体结合的任何决定簇。表位是通过靶向抗原的抗原结合蛋白所结合的抗原区,并且当抗原是蛋白时,表位包括直接接触抗原结合蛋白的特定氨基酸。最通常,表位存在于蛋白上,但是在一些情况下可以存在于另一种分子,如核酸上。表位决定簇可以包括分子的化学活性表面分组,如氨基酸、糖侧链、磷酸基或磺酰基,并且可以具有特定三维结构特征和/或特定电荷特征。通常,对特定靶标抗原特异的抗体将优先/特异性识别蛋白和/或大分子的复杂混合物中的靶标抗原上的表位。

[0087] 在示例性实施方式中,形成本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的部分(I)的激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含与SEQ ID NO 3内的CDRL1、CDRL2和CDRL3序列具有至少90%的同一性的3个轻链互补决定区(CDR);和与SEQ ID NO 6内的CDRH1、CDRH2和CDRH3序列具有至少90%的同一性的3个重链CDR。激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段还可以包含与SEQ ID NO 3内的CDRL1、CDRL2和CDRL3序列相同的3个轻链互补决定区(CDR);和与SEQ ID NO 6内的CDRH1、CDRH2和CDRH3序列相同的3个重链CDR。在这些实施方式中,根据CDR的Kabat定义、Chothia定义、AbM定义或接触定义来定义每个CDR;优选地其中根据CDR Kabat定义或者CDR Chothia定义来定义每个CDR。在具体的实施方式中,根据Kabat定义来定义每个CDR。在其它具体的实施方式中,根据Chothia定义来定义每个CDR。

[0088] 可替代地,形成本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的部分(I)的激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段可以包含(a)重链或其片段,其包含与SEQ ID NO 56具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的互补决定区(CDR)CDRH1、与SEQ ID NO 57具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的CDRH2和与SEQ ID NO 58具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的CDRH3;和(b)轻链或其片段,其包含与SEQ ID NO 52具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的CDRL1、与SEQ ID NO 53具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的CDRL2和与SEQ ID NO 54具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的CDRL3。

[0089] 在一些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含(a)重链或其片段,其包含与SEQ ID NO 56相同的互补决定区(CDR)CDRH1、与SEQ ID NO 57相同的CDRH2和与SEQ ID NO 58相同的CDRH3;和(b)轻链或其片段,其包含与SEQ ID NO 52相同的CDRL1、与SEQ ID NO 53相同的CDRL2和与SEQ ID NO 54相同的CDRL3。

[0090] 更具体地,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链可变区 V_L ,其包含SEQ ID NO 51中所示序列,或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链可变区 V_H ,其包含SEQ ID NO 55中所示序列,或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0091] 本发明的干扰素相关抗原结合蛋白还可以包含激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段,其包含Fab区重链,所述Fab区重链包含SEQ ID NO 12中所示氨基酸序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0092] 在一些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 3中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含选自SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 12和SEQ ID NO 50组成的组的序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0093] 在更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 3中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 6中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0094] 在更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 3中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少

98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 9中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0095] 在其它更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 3中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 49中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0096] 在其它更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 3中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 12中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0097] 在其它更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 3中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 50中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0098] 在一些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 59中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含选自由SEQ ID NO 61、SEQ ID NO 63和SEQ ID NO 65组成的组的序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0099] 在更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 59中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 61中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0100] 在其它更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 59中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 63中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0101] 在其它更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含轻链(LC),所述轻链(LC)包含SEQ ID NO 59中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列;和/或重链(HC),所述重链(HC)包含SEQ ID NO 65中所示序列或者与之具有至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的序列。

[0102] 干扰素相关抗原结合蛋白或其组分的变体和衍生物

[0103] 多肽(例如,干扰素相关抗原结合蛋白、干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段、抗体、抗原结合蛋白或IFN或其组分)的“变体”包含其中相对于另一多肽序列,1、2、3、4、5或更多个氨基酸残基插入到氨基酸序列中,从氨基酸序列中缺失和/或替换到氨基酸序列中的氨基酸序列。优选地,变体包含多至10个插入、缺失和/或替换,更优选地多至8个插入、缺失和/或替换。更具体地,变体可以包含多至10,更优选地多至8个插入。变体还可以包含多至10,更优选地多至8个缺失。在更优选的实施方式中,变体包含多至10个替换,最优选地多至8个替换。在一些实施方式中,这些替换是如以下所描

述的保守氨基酸替换。

[0104] 多核苷酸序列(例如,RNA或DNA)的“变体”包含多核苷酸序列内相对于另一多核苷酸序列的一个或多个突变,其中在核酸序列中插入,从核酸序列缺失和/或在核酸序列中取代1、2、3、4、5或更多个核酸残基。优选地,变体包含多至10个插入、缺失和/或替换,更优选地多至8个插入、缺失和/或替换。更具体地,变体可以包含多至10,更优选地多至8个插入。变体还可以包含多至10,更优选地多至8个缺失。在更优选的实施方式中,变体包含多至10个替换,最优选地多至8个替换。与另一氨基酸序列相比,所述1、2、3、4、5或更多个突变可以在变体所编码的氨基酸序列内引起1、2、3、4、5或更多个氨基酸交换(即“非沉默突变”)。变体还包括其中1、2、3、4、5或更多个密码子已被它们的同义密码子替换的核酸序列,所述同义密码子不引起氨基酸交换并因此被称为“沉默突变”。

[0105] 在多肽或核苷酸序列变体的背景中,术语“同一性”或“同源性”是指两个或更多个多肽分子或者两个或更多个核酸分子序列之间的关系,如通过序列比对和比较所确定的。“同一性百分比”表示所比较的分子中氨基酸或核苷酸之间相同残基的百分比,并且基于所比较的最小分子尺寸进行计算。优选地,对序列全长确定同一性。应理解“至少80%的同一性”的表达包括其中所要求保护的序列与参考序列具有至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的实施方式。表达“至少90%的同一性”包括其中所要求保护的序列与参考序列具有至少90%、至少91%、至少92%、至少93%、至少94%、至少95%、至少96%、至少97%、至少98%或者至少99%的同一性的实施方式。

[0106] 对于同一性百分比的计算,优选地通过特定数学模型或计算机程序(即“算法”)来解决比对中的空位(如果有的话)。可以用于计算所比对的核酸或多肽的同一性的方法包括在Computational Molecular Biology, (Lesk A.M.主编),1988,纽约:牛津大学出版社;Biocomputing Informatics and Genome Projects, (Smith,D.W.主编),1993,纽约:学术出版社;Computer Analysis of Sequence Data,第I部分, (Griffin,A.M.,和Griffin, H.G.主编),1994,美国新泽西州:胡马纳出版社(Humana Press);von Heinje,G.,1987, Sequence Analysis in Molecular Biology,纽约:学术出版社;Sequence Analysis Primer, (Gribskov,M.和Devereux,J.主编),1991,纽约:密斯托克顿出版社(M.Stockton Press);和Carillo等人,1988,SIAM J.Applied Math.48:1073中所述的那些。

[0107] 在计算同一性百分比时,通常以提供序列间最大匹配的方式比对要比较的序列。可以用于确定同一性百分比的计算机程序的一个实例为GCG程序包,其包括GAP (Devereux等人,1984,Nucl.Acids Res.12:387;遗传学计算机组(Genetics Computer Group),威斯康星大学,麦迪逊,WI)。将计算机算法GAP用于比对将确定其序列同一性百分比的两条多肽或多核苷酸。为了它们各自的氨基酸或核苷酸的最佳匹配(“匹配覆盖范围(matched span)”,如通过算法所确定的)来比对序列。结合算法使用空位开放罚分(将其计算为3x平均对角线,其中“平均对角线”是正在使用的比较矩阵的对角线的平均值;“对角线”是通过特定比较矩阵分配给每个完全氨基酸匹配的分数的数值)和空位延伸罚分(其通常为1/10倍空位开放罚分)以及比较矩阵,如PAM 250或者BLOsum 62。在某些实施方式中,还通过算法使用标准比较矩阵(对于PAM 250比较矩阵,参见,Dayhoff等人,1978,Atlas of Protein Sequence and Structure 5:345-352;对于BLOsum 62比较矩阵,参见,Henikoff等人,1992,Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.89:10915-10919)。

[0108] 可以用于使用GAP程序确定多肽或核苷酸序列的同一性百分比的参数的实例如下:

- [0109] • 算法:Needleman等人,1970,J.Mol.Biol.48:443-453
- [0110] • 比较矩阵:来自Henikoff等人,1992,如上的BLOSum 62
- [0111] • 空位罚分:12(但是对于末端空位无罚分)
- [0112] • 空位长度罚分:4
- [0113] • 相似性阈值:0

[0114] 用于比对两条氨基酸序列的某些比对方案仅可以使两条序列的较短区域匹配,并且这个小比对区域可以具有极高的序列同一性,即使两条全长序列之间不存在明显的关系。因此,如果需要产生覆盖靶标多肽的至少50个或至少100个,优选地整个长度的邻接氨基酸(contiguous amino acid,连续氨基酸)的比对,则可以调整所选的比对方法(GAP程序)。

[0115] 保守氨基酸替换可以涵盖非天然存在的氨基酸残基,其通常通过化学肽合成而非通过生物系统中的合成而掺入。这些包括拟肽及氨基酸部分的其它逆向或反向形式。

[0116] 天然存在的残基可以基于共同侧链性质进行分类:

- [0117] 1) 疏水性:正亮氨酸、Met、Ala、Val、Leu、Ile;
- [0118] 2) 中性亲水性:Cys、Ser、Thr、Asn、Gln;
- [0119] 3) 酸性:Asp、Glu;
- [0120] 4) 碱性:His、Lys、Arg;
- [0121] 5) 影响链取向的残基:Gly、Pro;和
- [0122] 6) 芳族:Trp、Tyr、Phe。

[0123] 例如,非保守替换可以包括这些类中的一类的成员交换成另一类的成员。例如,可以将这些替换的残基引入与非人抗体同源的人抗体区域中或者引入所述分子的非同源区域中。

[0124] 根据某些实施方式,在对干扰素相关抗原结合蛋白作出改变时,可以考虑氨基酸的亲水指数。基于其疏水性及电荷特征对每个氨基酸分配亲水指数。它们是:异亮氨酸(+4.5);缬氨酸(+4.2);亮氨酸(+3.8);苯丙氨酸(+2.8);半胱氨酸/胱氨酸(+2.5);蛋氨酸(+1.9);丙氨酸(+1.8);甘氨酸(-0.4);苏氨酸(-0.7);丝氨酸(-0.8);色氨酸(-0.9);酪氨酸(-1.3);脯氨酸(-1.6);组氨酸(-3.2);谷氨酸(-3.5);谷氨酰胺(-3.5);天冬氨酸(-3.5);天冬酰胺(-3.5);赖氨酸(-3.9);和精氨酸(-4.5)。

[0125] 在本领域中了解亲水氨基酸指数在对蛋白赋予相互作用性生物功能方面的重要性。Kyte等人,J.Mol.Biol.,157:105-131(1982)。已知某些氨基酸可以被替换成具有类似亲水指数或得分的其它氨基酸且仍然保留类似的生物活性。在某些实施方式中,在基于亲水指数作出改变时,包括亲水指数在 ± 2 内的氨基酸的替换。在某些实施方式中,包括亲水指数在 ± 1 内的那些,并且在某些实施方式中,包括亲水指数在 ± 0.5 内的那些。

[0126] 本领域还应理解可以基于亲水性有效进行类似氨基酸的替换。在某些实施方式中,如受其邻近氨基酸的亲水性所控制的,蛋白质的最大局部平均亲水性与其免疫原性和抗原性相关,即与蛋白质的生物性质相关。

[0127] 已将下列亲水性值分配给这些氨基酸残基:精氨酸(+3.0);赖氨酸(+3.0);天冬氨

酸(+3.0±1);谷氨酸(+3.0±1);丝氨酸(+0.3);天冬酰胺(+0.2);谷氨酰胺(+0.2);甘氨酸(0);苏氨酸(-0.4);脯氨酸(-0.5±1);丙氨酸(-0.5);组氨酸(-0.5);半胱氨酸(-1.0);蛋氨酸(-1.3);缬氨酸(-1.5);亮氨酸(-1.8);异亮氨酸(-1.8);酪氨酸(-2.3);苯丙氨酸(-2.5)和色氨酸(-3.4)。在基于类似亲水性值作出改变时,在某些实施方式中,包括亲水性值在±2内的氨基酸替换,在某些实施方式中,包括亲水性值在±1内的那些,并且在某些实施方式中,包括亲水性值在±0.5内的那些。

[0128] 表2显示了示例性氨基酸替换。

[0129] 表2.氨基酸替换。

[0130]

原始残基	示例性替换	优选的替换
Ala	Val、Leu、Ile	Val
Arg	Lys、Gln、Asn	Lys
Asn	Gln	Gln
Asp	Glu	Glu
Cys	Ser、Ala	Ser
Gln	Asn	Asn
Glu	Asp	Asp
Gly	Pro、Ala	Ala
His	Asn、Gln、Lys、Arg	Arg
Ile	Leu、Val、Met、Ala、Phe、正亮氨酸	Leu
Leu	正亮氨酸、Ile、Val、Met、Ala、Phe	Ile
Lys	Arg、1,4二氨基-丁酸、Gln、Asn	Arg
Met	Leu、Phe、Ile	Leu
Phe	Leu、Val、Ile、Ala、Tyr	Leu
Pro	Ala、Gly	Ala
Ser	Thr、Ala、Cys	Thr
Thr	Ser	Ser
Trp	Tyr、Phe	Tyr
Tyr	Trp、Phe、Thr、Ser	Phe
Val	Ile、Met、Leu、Phe、Ala、正亮氨酸	Leu

[0131] 根据本发明,技术人员将能够使用熟知的技术确定如本文所述的干扰素相关抗原结合蛋白的适合的变体。在某些实施方式中,本领域技术人员可以识别可以通过靶向据信对于活性不重要的区域来改变分子且不会破坏活性的适合区域。在某些实施方式中,技术人员可以识别在类似多肽中保守的分子的残基和部分。在某些实施方式中,可以对即使可以对于生物活性或对于结构重要的区域进行保守氨基酸替换且不会破坏生物活性或者不会不利地影响多肽结构。

[0132] 另外,本领域技术人员可以回顾结构-功能研究,从而识别对于活性或结构重要的类似多肽中的残基。参考这种比较,技术人员可以预测蛋白中对应于类似蛋白中对于活性或结构重要的氨基酸残基的氨基酸残基的重要性。本领域技术人员可以为这些预测的重要氨基酸残基选择化学类似的氨基酸替换。

[0133] 本领域技术人员还可以相对于类似蛋白或蛋白结构域中的结构分析三维结构和氨基酸序列。参考这种信息,本领域技术人员可以相对于其三维结构预测如本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白、抗体或其抗原结合片段或干扰素或其功能性片段的氨基酸残基的排列。在某些实施方式中,本领域技术人员可以选择不对预测位于蛋白表面上的氨基酸残基做出彻底改变,因此这些残基可以参与与其它分子的重要相互作用。此外,本领域技术人员可以在每个所期望的氨基酸残基处产生包含单个氨基酸替换的测试变体。然后,可以使用本领域技术人员已知的活性测定筛选所述变体。这些变体可以用于搜集有关适合的变体的信息。例如,如果技术人员发现特定氨基酸残基的改变导致活性破坏、不期望的降低或不适合的活性,则可以避免具有这种改变的变体。换言之,基于从这些实验所收集的信息,本领域技术人员可以容易地确定其中应避免单独或与其它突变组合的其它替换的氨基酸。

[0134] 根据某些实施方式,氨基酸替换为:(1)降低对蛋白水解的敏感性,(2)降低对氧化的敏感性,(3)改变对形成蛋白质复合物的结合亲和力,(4)改变结合亲和力,和/或(5)赋予或改变这些多肽的其它物理化学或功能性质的那些。根据某些实施方式,可以在天然存在的序列(在某些实施方式中,在形成分子间接触的结构域以外的多肽部分中)中做出单一或多个氨基酸替换(在某些实施方式中,保守氨基酸替换)。在某些实施方式中,保守氨基酸替换通常可以不显著改变亲代序列的结构特性(例如,替代氨基酸不应倾向于打破亲代序列中存在的螺旋或者破坏表征亲代序列的其它类型的二级结构)。本领域承认的多肽二级和三级结构的实例描述于Proteins, Structures and Molecular Principles (Creighton主编, W.H. Freeman and Company, 纽约(1984)); Introduction to Protein Structure (C. Branden & J. Tooze主编, 加兰德出版(Garland Publishing), 纽约, N.Y. (1991)); 和Thornton等人, Nature, 354:105 (1991), 以上文献分别作为参考并入本文。

[0135] 术语“衍生物”是指包括除氨基酸(或核酸)的插入、缺失或替换以外的化学修饰的分子。在某些实施方式中,衍生物包含共价修饰,其包括但不限于与聚合物、脂质或其它有机或无机部分的化学键合。在某些实施方式中,化学修饰的干扰素相关抗原结合蛋白可以具有比未化学修饰的干扰素相关抗原结合蛋白更长的循环半衰期。在某些实施方式中,化学修饰的干扰素相关抗原结合蛋白可以对所期望的细胞、组织和/或器官具有改善的靶向能力。在一些实施方式中,共价修饰衍生的干扰素相关抗原结合蛋白以包括一种或多种水溶性聚合物连接,其包括但不限于聚乙二醇、聚氧乙二醇或聚丙二醇。参见,例如,美国专利号:4,640,835、4,496,689、4,301,144、4,670,417、4,791,192和4,179,337。在某些实施方式中,衍生的干扰素相关抗原结合蛋白包含一种或多种聚合物,其包括但不限于单甲氧基-聚乙二醇、葡聚糖、纤维素或其它碳水化合物基聚合物、聚-(N-乙烯基吡咯烷酮)-聚乙二醇、丙二醇均聚物、聚环氧丙烷/环氧乙烷共聚物、聚氧乙烯多元醇(例如甘油)及聚乙烯醇以及这些聚合物的混合物。

[0136] 在某些实施方式中,通过聚乙二醇(PEG)亚基共价修饰如本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白的衍生物。在某些实施方式中,可以在衍生物的一个或多个具体位置,例如,在氨基末端键合一个或多个水溶性聚合物。在某些实施方式中,可以将一个或多个水溶性聚合物随机连接至衍生物的一个或多个侧链。在某些实施方式中,将PEG用于改善干扰素相关抗原结合蛋白的治疗能力。某些这些方法讨论例如于美国专利号6,133,426,该专利出于任何目的作为参考并入本文。

[0137] 在某些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白变体包括糖基化变体,其中与亲代多肽的氨基酸序列相比,改变了糖基化位点的数目和/或类型。在某些实施方式中,蛋白变体包含比天然蛋白更多的N-连接的糖基化位点。在其它实施方式中,蛋白变体包含比天然蛋白更少的N-连接的糖基化位点。N-连接的糖基化位点的特征在于序列:Asn-X-Ser或者Asn-X-Thr,其中表示为X的氨基酸残基可以是除脯氨酸之外的任何氨基酸残基。产生该序列的氨基酸残基的替换提供了用于添加N-连接的碳水化合物链的可能的新的位点。可替代地,消除该序列的替换将除去已有的N-连接的碳水化合物链。还提供了N-连接的碳水化合物链的重排,其中消除1、2、3、4、5或更多个N-连接的糖基化位点(通常天然存在的那些)并且产生一个或多个新的N-连接的位点。其它优选的变体包括半胱氨酸变体,其中与亲代氨基酸序列相比,缺失一个或多个半胱氨酸残基或者用另一氨基酸(例如,丝氨酸)替换半胱氨酸残基。当抗体必须折叠成生物学活性构象时,如在不溶性包涵体的分离之后,半胱氨酸变体可以是有用的。半胱氨酸变体通常具有比天然蛋白更少的半胱氨酸残基,并且通常具有偶数以最大程度减小由未配对的半胱氨酸所产生的相互作用。

[0138] HBV和HBV标志物

[0139] 如本文所使用的,“乙肝病毒”或“HBV”是指导致乙型肝炎的双链DNA病毒,其属于被称为肝脱氧核糖核酸病毒的密切相关的DNA病毒家族。肝脱氧核糖核酸病毒对于感染肝细胞具有强烈偏好,但是少量肝脱氧核糖核酸病毒DNA可以存在于肾、胰脏和单核细胞中。然而,在这些位点的感染与其它肝病无关。

[0140] HBV病毒颗粒,即戴恩颗粒由外层脂质包膜和由蛋白组成的二十面核衣壳核心组成。核衣壳包裹病毒DNA和具有类似于反转录病毒的反转录酶活性的DNA聚合酶。外层包膜含有包埋蛋白,其参与敏感细胞的病毒结合和进入。所述病毒是最小的包膜动物病毒之一,其病毒颗粒直径为42nm,但是存在多形形式,包括缺少核心的丝状体和球形体。这些颗粒不具有传染性并且由脂质和构成病毒颗粒表面的一部分的蛋白组成,所述蛋白被称为表面抗原(HBsAg)并且在病毒生命周期期间过量产生。HBV包含HBsAg、HBcAg(及其剪接变体HBeAg)、DNA聚合酶和Hbx。HBV是少数已知的非反转录病毒之一,其使用逆转录作为其复制过程的一部分。

[0141] HBV核衣壳含有相对小且部分双螺旋的3.2kb环状DNA、病毒聚合酶和核心蛋白。基因组仅具有4个长开放阅读框。基因组的pre-S-S(前-表面-表面)区通过3个框内起始密码子中每一个处的差异翻译起始来编码3个病毒表面抗原。

[0142] HBV最丰富的蛋白是24kD S蛋白(其被称为HBsAg)。pre-C-C(前-核心-核心)区编码HBcAg(HBV核心抗原)和HBeAg(HBV e抗原)。病毒复制不需要HBeAg并且HBeAg在病毒组装不起作用,但是尽管如此,HBeAg是活性病毒复制的有用指示。由于通过HBV-感染的肝细胞分泌HBeAg,因此可以通过标准诊断测试(如ELISA)检测血液中的HBeAg,并因此将HBeAg用作病毒血症HBV感染的实验室标志物(Testoni等人, Serum hepatitis B core-related antigen(HBcrAg) correlates with covalently closed circular DNA. J. Hepatol. 2019, 70, 615-625. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2018.11.030>)。

[0143] P-编码区对病毒聚合酶特异,所述病毒聚合酶是参与DNA合成和RNA衣壳化的多功能酶。X开放阅读框编码病毒X蛋白(HBx),其调节宿主-细胞信号转导并且可以直接和间接影响宿主和病毒基因表达。

[0144] 据信当病毒通过其包膜蛋白连接至宿主细胞膜时,HBV的生命周期开始。已表明HBV结合至主要通过大包膜蛋白的前-S1结构域在人肝细胞上表达的质膜上的受体,如在HBV感染的起始步骤中。然而,受体的性质仍有争议。然后,病毒膜与细胞膜融合,并将病毒基因组释放到细胞中。

[0145] 可以通过多种因素,包括激素、生长因子和细胞因子调节HBV的复制。在病毒基因组到达核之后,细胞DNA修复机制将部分双链DNA(dsDNA;也称为松弛环状HBV DNA(rcDNA))基因组转化成共价闭环DNA(cccDNA)。所产生的cccDNA是用于前基因组RNA和亚基因组RNA的进一步转录的宿主RNA Pol-II的模板(Allweiss L和Dandri M,The Role of cccDNA in HBV Maintenance.Viruses 2017,9(6):156;doi:10.3390/v9060156;Nur K.Mohd-Ismail,Zijie Lim,Jayantha Gunaratne和Yee-Joo Tan,Mapping the Interactions of HBV cccDNA with Host Factors.Int.J.Mol.Sci.2019,20(17):4276;doi:10.3390/ijms20174276)。

[0146] 前基因组RNA是双功能的,其用作病毒DNA合成的模板和前-C、C和P翻译的信使。亚基因组RNA仅起到包膜和X蛋白翻译的作用。所有病毒RNA被转运至细胞质,在此其翻译得到病毒包膜、核心和聚合酶蛋白以及HBx和HBcAg。

[0147] HBV核心颗粒在胞液中组装,并在该过程期间,前基因组RNA的单个分子被引入组装的病毒核心。一旦病毒RNA衣壳化,则逆转录开始。两条病毒DNA链的合成是顺序的。第一DNA链由衣壳化RNA模板制成;在该链的合成期间或之后,RNA模板降解并且通过使用新制备的第一DNA链作为模板,第二DNA链的合成继续。具有成熟基因组的一些核心被转运回核,在此它们新制成的DNA基因组可以被转化为cccDNA以维持转录模板稳定的核内混合池。

[0148] 起初,合成了HBV表面抗原(HBsAg)蛋白并在糙面内质网中聚合。将这些蛋白转运至后-ER和前-高尔基体区室,在此继续核衣壳出芽。将组装的HBV病毒颗粒和亚病毒颗粒转运至高尔基体以进一步修饰表面蛋白的聚糖,然后从宿主细胞中分泌出来以完成生命周期。

[0149] 本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白、核酸、载体、载体体系、方法和组合物可以用于治疗HBV感染。如本文所使用的,“治疗HBV感染”和“HBV感染的治疗”是指以下中的一种或多种:(i)降低HBV病毒载量/病毒滴度;(ii)降低cccDNA的转录;(iii)降低细胞中前基因组RNA的水平;(iv)减少一种或多种HBV-相关病症;以及(v)减少受试者中的一种或多种HBV-相关症状。

[0150] 术语“病毒载量”和“病毒滴度”表示细胞、器官或体液,如血液或血清中病毒颗粒的数目。基于测定类型,病毒载量或病毒滴度通常被表示为病毒颗粒或者传染性颗粒/mL。目前,通常使用国际单位每毫升(IU/mL)测量病毒载量。作为另外一种选择,可以将病毒载量或病毒滴度确定为所谓的病毒基因组当量。更高的病毒负荷、滴度或病毒载量通常与活性病毒感染的严重程度相关。因此,减少病毒载量或病毒滴度与例如血清中的传染性病毒颗粒数目的减少相关。通常使用核酸扩增基测试(NATs或NAATss)确定病毒载量。NAT/NAAT测试使用例如PCR(定量)逆转录聚合酶链反应(RT-PCR或qRT-PCR)、核酸序列基扩增(NASBA)或者探针-基测定。用于乙型肝炎病毒DNA定量的实时PCR测定描述于例如Liu等人,Virol J 14,94(2017)doi:10.1186/s12985-017-0759-8。由于使用PCR时病毒DNA检测的容易性,因此病毒载量在临床环境中监测治疗期间的成功是有用的。独立于HBeAg状态,>

10.000拷贝/mL (2.000IU/mL) 的病毒载量是肝细胞癌的强风险预测因子。

[0151] 术语“患者”和“受试者”是可互换使用的并且包括人和非人动物受试者,优选地人受试者,以及正式诊断患有病症的那些、尚未正式认识到病症的那些,接受医学关注的那些、处于发生病症风险的那些等。

[0152] 在具体的实施方式中,本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白、核酸、载体、载体体系、方法和组合物可以用于减少HBV-感染细胞中(如细胞培养物、HBV-感染的器官或者HBV-感染患者中)的HBV病毒载量/病毒滴度。与未治疗的HBV-感染的细胞培养物或者治疗前的相同患者相比,HBV病毒载量/病毒滴度可以减少约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。在一些实施方式中,HBV病毒载量/病毒滴度减少了至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或者至少95%。优选地,HBV病毒载量/病毒滴度减少了至少35%,更优选地减少了至少50%。在一些实施方式中,通过PCR或qRT-PCR确定病毒载量/病毒滴度。

[0153] 在具体的实施方式中,本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白、核酸、载体、载体体系、方法和组合物可以用于降低HBV-感染细胞中(如细胞培养物、HBV-感染的器官或者HBV-感染患者中)的HBV cccDNA的转录。与未治疗的HBV-感染的细胞培养物或者治疗前的相同患者相比,cccDNA转录可以减少约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。在一些实施方式中,HBV cccDNA的转录减少了至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或者至少95%。优选地,HBV cccDNA的转录减少了至少35%,更优选地减少了至少50%。在一些实施方式中,通过PCR或qPCR确定HBV cccDNA的转录。

[0154] 在具体的实施方式中,本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白、核酸、载体、载体体系、方法和组合物可以用于减少HBV-感染细胞中(如细胞培养物、HBV-感染的器官或者HBV-感染患者中)的前基因组HBV RNA的水平。与未治疗的HBV-感染的细胞培养物或者治疗前的相同患者相比,前基因组HBV RNA水平可以减少约20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或100%。在一些实施方式中,前基因组HBV RNA的水平减少了至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%或者至少95%。优选地,前基因组HBV RNA的水平减少了至少35%,更优选地减少了至少50%。在一些实施方式中,通过qRT-PCR确定前基因组HBV RNA的水平。

[0155] 如本文所使用的,“HBV-相关病症”是指由HBV对受试者的感染所产生的病症。HBV-相关病症包括但不限于急性肝炎、慢性肝炎、黄疸性肝炎、暴发性肝炎、亚暴发性肝炎和由任何这些病症所造成的症状和/或并发症。

[0156] 如本文所使用的,“HBV-相关症状”、“HBV感染的症状”或“HBV-相关并发症”包括与HBV感染相关的一种或多种身体功能障碍。HBV症状和并发症包括但不限于肝硬化、肝细胞癌(HCC)、膜性肾小球肾炎(MGN)、死亡、急性坏死性脉管炎(多发性结节性动脉炎)、膜性肾小球肾炎、儿童丘疹肢皮炎(奇柯二氏综合征)、HBV-相关肾病(例如,膜性肾小球肾炎)、免疫-介导的血液学病症(例如,特发性混合性冷球蛋白血症、再生障碍性贫血)、门静脉高压

症、腹水、脑病、黄疸、瘙痒、粪便发白、脂肪痢、多发性结节性动脉炎、肾小球疾病、异常ALT水平、异常AST水平、异常碱性磷酸酶水平、胆红素水平升高、厌食症、不适、发烧、恶心、呕吐等。

[0157] 干扰素

[0158] 如本文所使用的，“干扰素”或“IFN”是指细胞因子或其衍生物，其通常通过细胞对病原体或肿瘤细胞的存在响应而产生并释放。IFN包括I型IFN（例如，IFN α 、IFN β 、IFN ϵ 、IFN κ 、IFN τ 、IFN ζ 和IFN ω ）、II型IFN（例如，IFN γ ）和III型IFN（例如，IFN λ 1、IFN λ 2和IFN λ 3）。术语“干扰素”或“IFN”无限制地包括全长IFN、其变体或衍生物（例如，化学（例如，PEG化）修饰的衍生物或突变蛋白）或其功能活性片段，其保留了全长IFN的一个或多个信号转导活性。

[0159] 如本文所使用的，术语“功能性片段”是指保留原始物质的一个或多个功能活性的物质的片段。例如，干扰素的功能性片段是指保留如本文所描述的IFN功能的干扰素片段，例如，它介导IFN通路信号转导。

[0160] 当添加至表达同源IFN受体（IFN α 的IFNAR、IFN β 的IFNBR等）的细胞、组织或生物时，IFN可以将一种或多种IFN受体活性提高至少约20%。在一些实施方式中，干扰素将IFN受体活性激活至少40%、至少50%、至少60%、至少70%、至少80%或者至少85%。如实施例I中更详细地描述的，可以例如使用体外报告细胞测定，例如，使用HEK-BlueTMIFN- α/β 细胞（InvivoGen，产品目录#:hkb-ifn $\alpha\beta$ ）、HEK-BlueTMIFN- λ （InvivoGen，产品目录#:hkb-ifn λ ）或者HEK-BlueTMDual IFN- γ 细胞（InvivoGen，产品目录#:hkb-ifn γ ）测量IFN的活性（即“IFN活性”）。通过用人IFN受体基因和IFN-刺激的响应元件-控制的分泌的胚胎碱性磷酸酶（SEAP）构建体稳定转染HEK293细胞产生这些报告细胞以测量IFN的活性。设计HEK-BlueTMIFN-细胞以监测通过I型、II型或III型干扰素诱导的JAK/STAT/ISGF3通路的激活。这些通路的激活诱导SEAP的生产和释放。

[0161] 在本发明的背景下，干扰素相关抗原结合蛋白激活CD40和IFN通路两者。在某些实施方式中，干扰素相关抗原结合蛋白以小于100、60、50、40、30、20、10或1ng/mL的EC₅₀，优选地以小于11ng/mL的EC₅₀，更优选地以小于6ng/mL的EC₅₀激活IFN通路。在这些实施方式的一些中，IFN通路为IFN α （干扰素 α ）、IFN β （干扰素 β ）、IFN ϵ （干扰素 ϵ ）、IFN ω （干扰素 ω ）、IFN γ （干扰素 γ ）或IFN λ （干扰素 λ ）通路。

[0162] 根据某些示例性实施方式，如本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白包括全长IFN、其变体或衍生物（例如，化学（例如，PEG化）修饰的衍生物或突变蛋白）或其功能活性片段，其保留了全长IFN的一种或多种信号转导活性。在某些实施方式中，IFN为人IFN。

[0163] 在某些实施方式中，如本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白包括选自I型IFN、II型IFN和III型IFN或其功能性片段组成的组的IFN或其功能性片段。

[0164] 在具体的实施方式中，IFN或其功能性片段是I型IFN或其功能性片段。在具体的实施方式中，I型IFN或其功能性片段是IFN α 、IFN β 、IFN ω 或IFN ϵ 或其功能性片段。在更具体的实施方式中，I型IFN或其功能性片段是IFN α 或IFN β 或其功能性片段。在其它更具体的实施方式中，I型IFN或其功能性片段是IFN α 或其功能性片段。在其它更具体的实施方式中，I型IFN或其功能性片段为IFN β 或其功能性片段。在其它更具体的实施方式中，I型IFN或其功能性片段为IFN ω 或其功能性片段。在其它更具体的实施方式中，I型IFN或其功能性片段为IFN ϵ 或其功能性片段。

[0165] 在具体的实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IFN λ 、IFN ϵ 或者IFN ω 或其功能性片段。在具体的实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN α 或IFN β 或其功能性片段。

[0166] 在一些实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN α 或其功能性片段。在更具体的实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN α 2a或其功能性片段。IFN α 2a可以包含SEQ ID NO 17中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0167] 在一些实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN β 或其功能性片段。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。IFN β 或其功能性片段可以相对于SEQ ID NO 14包含一个或两个氨基酸替换,其选自C17S和N80Q。在一些实施方式中,IFN β 或其功能性片段相对于SEQ ID NO 14包含氨基酸替换C17S。在一些实施方式中,IFN β 包含SEQ ID NO 15中所示的氨基酸序列。在其它实施方式中,IFN β 相对于SEQ ID NO 14包含氨基酸替换C17S和N80Q。在其它实施方式中,IFN β 包含SEQ ID NO 16中所示的氨基酸序列。

[0168] 在一些实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN γ 或IFN λ 或其功能性片段。在具体的实施方式中,IFN或其功能性片段是IFN γ 或其功能性片段。在更具体的实施方式中,IFN γ 包含SEQ ID NO 19中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。在其它具体的实施方式中,IFN或其功能性片段是IFN λ 或其功能性片段。在更具体的实施方式中,IFN λ 或其功能性片段为IFN λ 2或其功能性片段。IFN λ 2可以包含SEQ ID NO 18中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0169] 在一些实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN ϵ 或其功能性片段。IFN ϵ 可以包含SEQ ID NO 80中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0170] 在一些实施方式中,IFN或其功能性片段为IFN ω 或其功能性片段。IFN ω 可以包含SEQ ID NO 79中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0171] 在某些实施方式中,在用本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白处理的HBV-感染细胞中改变,即上调或下调了一种或多种IFN信号转导通路生物标志物的表达水平。根据某些示例性实施方式,在用本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白处理的HBV-感染细胞中上调了一种或多种IFN通路生物标志物的表达水平。在本上下文中,“生物标志物”将被理解为作为正常生物过程、致病过程或对治疗干预的药理学反应的指示进行客观测量和评价的特征。

[0172] 根据某些实施方式,本文中重要的适合的IFN通路生物标志物为趋化因子,例如,C-X-C趋化因子,其选自由CXCL9、CXCL10和CXCL11组成的组。在某些示例性实施方式中,通过IFN通路诱导的适合的生物标志物为CXCL9、CXCL10和/或CXCL11,以及干扰素刺激的基因ISG20。可以使用本领域中已知的技术,如ELISA定量细胞因子诱导或释放。作为另外一种选择,还可以使用RNA-基测定,如RNAseq或qRT-PCR确定诱导。在某些实施方式中,上调可以表示这些细胞因子的表达或分泌提高至少1.5-倍、至少2-倍、至少2.5-倍、至少3-倍、至少4-倍、至少5-倍或至少10-倍。

[0173] 在这些或在其它示例性实施方式中,通过本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在人全血细胞中促炎细胞因子,例如,IL10、IL1 β 和/或IL2的表达水平未显著上调。在一些实施方式中,通过用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在人全血细胞中IL10的表

达水平未显著上调。在一些实施方式中,通过用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在人全血细胞中IL1 β 的表达水平未显著上调。在一些实施方式中,通过用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在HBV-感染细胞中IL2的表达水平未显著上调。在一些实施方式中,通过用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在HBV-感染细胞中IL10和IL1 β 的表达水平未显著上调。在一些实施方式中,通过用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在HBV-感染细胞中IL10和IL2的表达水平未显著上调。在一些实施方式中,通过用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在HBV-感染细胞中IL1 β 和IL2的表达水平未显著上调。在一些实施方式中,通过用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白处理,在HBV-感染细胞中IL10、IL1 β 和IL2的表达水平未显著上调。

[0174] 干扰素相关抗原结合蛋白

[0175] 如本文所使用的,术语“结合的”一般是指两种(或更多)分子的共价或非共价键合。通过将两种或更多种不同的肽或蛋白连接产生了结合的蛋白,从而导致产生了具有来自于每种原始蛋白的一种或多种功能性质的蛋白。在本发明的背景中,干扰素相关抗原结合蛋白激活CD40和IFN通路两者。结合的蛋白涵盖了单体和多聚体,例如,二聚体、三聚体、四聚体等,不同结合或融合蛋白的复合物。在这方面,由两个蛋白的表面区域之间的强相互作用,通常通过离子、范德华力和/或氢键相互作用产生了非共价键。另一方面,共价键需要真实化学键,如肽键、二硫桥等的存在。如本文所使用的,术语“融合的”一般是指以共价形式通过肽键连接两种或更多种不同的肽或蛋白。因此,“融合蛋白”是指通过具有来源于每种初始蛋白的一种或多种功能性质的肽键连接两种或更多种不同的肽或蛋白所产生的单个蛋白。在某些实施方式中,可以通过一个或多个肽接头(“L”)将两种或更多种不同的肽或蛋白彼此融合。

[0176] 在本发明的所有方面,干扰素相关抗原结合蛋白是包含激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段和IFN或其功能性片段的蛋白。

[0177] 在一些实施方式中,IFN或其功能性片段与激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段非共价结合。在更具体的实施方式中,IFN或其功能性片段与激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段通过离子、范德华力和/或氢键相互作用非共价结合。

[0178] 在其它实施方式中,IFN或其功能性片段与激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段共价结合。在优选的实施方式中,IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段。IFN或其功能性片段可以融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。在一些实施方式中,IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端。在其它实施方式中,IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的C-末端。IFN或其功能性片段还可以融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端。在其它实施方式中,IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的C-末端。在任何这些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段和IFN或其功能性片段可以通过接头彼此融合。

[0179] 如本文所使用的,术语“接头”或“L”是指将一个或多个激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段共价连接至一个或多个干扰素或其功能性片段的任何部分。在示例性实

施方式中,接头为肽接头。如本文所使用的,术语“肽接头”是指适合于连接两个或更多个部分的肽。在本文中所提及的肽接头可以具有以下所列的一种或多种性质。表7中显示了根据某些示例性实施方式的肽接头的序列。

[0180] 肽接头可以具有任何长度,即包含任何数目的氨基酸残基。在示例性实施方式中,接头包含至少1、至少2、至少3、至少4、至少5个氨基酸。接头可以包含至少4个氨基酸。接头可以包含至少11个氨基酸。接头可以包含至少12个氨基酸。接头可以包含至少13个氨基酸。接头可以包含至少15个氨基酸。接头可以包含至少20个氨基酸。接头可以包含至少21个氨基酸。接头可以包含至少24个氨基酸。

[0181] 接头通常足够长以提供足够的灵活程度以防止所连接的部分彼此妨碍活性,例如,部分结合至受体的能力。在示例性实施方式中,接头包含多至10、多至20、多至30、多至40、多至50、多至60、多至70、多至80、多至90或者多至100个氨基酸。接头可以包含多至80个氨基酸。接头可以包含多至40个氨基酸。接头可以包含多至24个氨基酸。接头可以包含多至21个氨基酸。接头可以包含多至20个氨基酸。接头可以包含多至15个氨基酸。接头可以包含多至13个氨基酸。接头可以包含多至12个氨基酸。接头可以包含多至11个氨基酸。接头可以包含多至4个氨基酸。

[0182] 在一些实施方式中,接头选自包括刚性、柔性和/或螺旋-形成接头的组。应理解螺旋-形成接头也可以是刚性接头,因为 α -螺旋具有比认为具有更无规卷曲构象的肽的自由度更低。在一些实施方式中,接头是刚性接头。示例性刚性接头包含SEQ ID NO 20中所示序列。其它示例性刚性接头包含SEQ ID NO 22或SEQ ID NO 23中所示序列。在相关实施方式中,接头是螺旋-形成接头。示例性螺旋-形成接头包含SEQ ID NO 22或SEQ ID NO 23中所示序列。在其它实施方式中,接头是柔性接头。示例性柔性接头包含SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或者SEQ ID NO 26中所示序列。

[0183] 接头还可以具有不同的化学性质。接头可以选自酸性、碱性或中性接头。通常,酸性接头含有一个或多个酸性氨基酸,如Asp或Glu。碱性接头通常含有一个或多个碱性氨基酸,如Arg、His和Lys。这两类氨基酸都是非常亲水的。在一些实施方式中,接头是酸性接头。示例性酸性接头包含SEQ ID NO 22或SEQ ID NO 23中所示序列。在其它实施方式中,接头是碱性接头。在其它实施方式中,接头是中性接头。示例性中性接头包含SEQ ID NO 20、SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或者SEQ ID NO 26中所示序列。

[0184] 在优选的实施方式中,接头是由多个甘氨酸、丝氨酸并且在适用情况下,苏氨酸残基组成的Gly-Ser或Gly-Ser-Thr接头。在这些实施方式的一些中,接头包含氨基酸甘氨酸和丝氨酸。在更具体的实施方式中,接头包含SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25、SEQ ID NO 26中所示序列。在一些实施方式中,接头还包括氨基酸苏氨酸。在更具体的实施方式中,接头包含SEQ ID NO 21中所示序列。

[0185] 在本发明的示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含接头,所述接头包含选自SEQ ID NO 20至26中所示序列,优选地SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或SEQ ID NO 26中所示序列的序列。在优选的实施方式中,接头包含SEQ ID NO 24中所示序列。在另一个优选的实施方式中,接头包含SEQ ID NO 25中所示序列。在另一个优选的实施方式中,接头包含SEQ ID NO 26中所示序列。

[0186] 在根据本发明的方面中的任一个的多个实施方式中,除了形成(I)所述激动性抗-

CD40抗体或其激动性抗原结合片段和(II)所述IFN或其功能性片段的那些以外,干扰素相关抗原结合蛋白不包含氨基酸。在相关实施方式中,除了形成(I)所述激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段、(II)所述IFN或其功能性片段和(III)所述接头的那些以外,干扰素相关抗原结合蛋白不包含氨基酸。

[0187] 以下列出了代表(I)激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段、(II)干扰素(IFN)或其功能性片段和(III)接头的多种不同配置的示例性实施方式。

[0188] 在某些优选的实施方式中,将IFN或其功能性片段通过接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的C-末端,如表3A或表3B中所示。在这些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链可以包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 48或SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 61或SEQ ID NO 63中所示序列。IFN α 2a可以包含SEQ ID NO 17中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14中所示序列。IFN β _C17S可以包含SEQ ID NO 15中所示序列。IFN β _C17S,N80Q可以包含SEQ ID NO 16中所示序列。IFN γ 可以包含SEQ ID NO 19中所示序列。IFN λ 2可以包含SEQ ID NO 18中所示序列。IFN ϵ 可以包含SEQ ID NO 80中所示序列。IFN ω 可以包含SEQ ID NO 79中所示序列。所提及的接头是表7中所列的那些。

[0189] 在其中将IFN融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的C-末端的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白还包括激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。在更具体的实施方式中,重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 48或SEQ ID NO 49中所示序列并且轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列。在其它更具体的实施方式中,重链包含SEQ ID 61或SEQ ID 63中所示的序列并且轻链包含SEQ ID NO 59中所示序列。

[0190] 表3.融合至抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的C-末端的干扰素或其功能性片段。

[0191]

Δ	IFN α 2a	IFN β	IFN β _C17S	IFN β _C17S,N80Q	IFN γ	IFN λ 2
RL接头	抗 CD40 _{HC} --RL--IFN α 2a	抗 CD40 _{HC} --RL--IFN β	抗 CD40 _{HC} --RL--IFN β _C17S	抗 CD40 _{HC} --RL--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{HC} --RL--IFN γ	抗 CD40 _{HC} --RL--IFN λ 2
GST接头	抗 CD40 _{HC} --GST--IFN α 2a	抗 CD40 _{HC} --GST--IFN β	抗 CD40 _{HC} --GST--IFN β _C17S	抗 CD40 _{HC} --GST--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{HC} --GST--IFN γ	抗 CD40 _{HC} --GST--IFN λ 2
HL接头	抗 CD40 _{HC} --HL--IFN α 2a	抗 CD40 _{HC} --HL--IFN β	抗 CD40 _{HC} --HL--IFN β _C17S	抗 CD40 _{HC} --HL--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{HC} --HL--IFN γ	抗 CD40 _{HC} --HL--IFN λ 2
HL2接头	抗 CD40 _{HC} --HL2--IFN α 2a	抗 CD40 _{HC} --HL2--IFN β	抗 CD40 _{HC} --HL2--IFN β _C17S	抗 CD40 _{HC} --HL2--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{HC} --HL2--IFN γ	抗 CD40 _{HC} --HL2--IFN λ 2
(G4S)2接头	抗 CD40 _{HC} --(G4S)2--IFN α 2a	抗 CD40 _{HC} --(G4S)2--IFN β	抗 CD40 _{HC} --(G4S)2--IFN β _C17S	抗 CD40 _{HC} --(G4S)2--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{HC} --(G4S)2--IFN γ	抗 CD40 _{HC} --(G4S)2--IFN λ 2
(G4S)3接头	抗 CD40 _{HC} --(G4S)3--IFN α 2a	抗 CD40 _{HC} --(G4S)3--IFN β	抗 CD40 _{HC} --(G4S)3--IFN β _C17S	抗 CD40 _{HC} --(G4S)3--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{HC} --(G4S)3--IFN γ	抗 CD40 _{HC} --(G4S)3--IFN λ 2
(G4S)4接头	抗 CD40 _{HC} --(G4S)4--IFN α 2a	抗 CD40 _{HC} --(G4S)4--IFN β	抗 CD40 _{HC} --(G4S)4--IFN β _C17S	抗 CD40 _{HC} --(G4S)4--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{HC} --(G4S)4--IFN γ	抗 CD40 _{HC} --(G4S)4--IFN λ 2

[0192]

B	IFNϵ	IFNω
RL接头	抗 CD40_HC-- RL--IFN ϵ	抗 CD40_HC-- RL--IFN ω
GST接头	抗 CD40_HC-- GST--IFN ϵ	抗 CD40_HC-- GST--IFN ω
HL接头	抗 CD40_HC-- HL--IFN ϵ	抗 CD40_HC-- HL--IFN ω
HL2接头	抗 CD40_HC-- HL2--IFN ϵ	抗 CD40_HC-- HL2--IFN ω
(G4S)2接头	抗 CD40_HC-- (G4S)2--IFN ϵ	抗 CD40_HC-- (G4S)2--IFN ω
(G4S)3接头	抗 CD40_HC-- (G4S)3--IFN ϵ	抗 CD40_HC-- (G4S)3--IFN ω
(G4S)4接头	抗 CD40_HC-- (G4S)4--IFN ϵ	抗 CD40_HC-- (G4S)4--IFN ω

[0193] 在某些优选的实施方式中,将IFN或其功能性片段通过接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的N-末端,如表4A或表4B中所示。在这些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链可以包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 48、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 50、SEQ ID NO 61、SEQ ID NO 63或者SEQ ID NO 65中所示序列。IFN α 2a可以包含SEQ ID NO 17中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14中所示序列。IFN β _C17S可以包含SEQ ID NO 15中所示序列。IFN β _C17S,N80Q可以包含SEQ ID NO 16中所示序列。IFN γ 可以包含SEQ ID NO 19中所示序列。IFN λ 2可以包含SEQ ID NO 18中所示序列。IFN ϵ 可以包含SEQ ID NO 80中所示序列。IFN ω 可以包含SEQ ID NO 79中所示序列。所提及的接头是表7中所列的那些。

[0194] 在其中将IFN融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的N-末端的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白还包括激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。在更具体的实施方式中,重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 48、SEQ ID NO 49或SEQ ID NO 50中所示序列并且轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列。在其它更具体的实施方式中,重链包含SEQ ID 61、SEQ ID 63或SEQ ID 65中所示序列并且轻链包含SEQ ID NO 59中所示序列。

[0195] 表4.融合至抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的N-末端的干扰素或其功能性片段。

[0196]

A	IFNα2a	IFNβ	IFNβ_C17S	IFNβ_C17S,N80Q	IFNγ	IFNλ2
RL 接头	IFN α 2a--RL-- 抗 CD40_HC	IFN β --RL-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S-- RL-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S,N80Q-- RL-- 抗 CD40_HC	IFN γ --RL-- 抗 CD40_HC	IFN λ 2--RL-- 抗 CD40_HC
GST 接头	IFN α 2a--GST-- 抗 CD40_HC	IFN β --GST-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S-- GST-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S,N80Q-- GST-- 抗 CD40_HC	IFN γ --GST-- 抗 CD40_HC	IFN λ 2--GST-- 抗 CD40_HC
HL 接头	IFN α 2a--HL-- 抗 CD40_HC	IFN β --HL-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S-- HL-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S,N80Q-- HL-- 抗 CD40_HC	IFN γ --HL-- 抗 CD40_HC	IFN λ 2--HL-- 抗 CD40_HC
HL2 接头	IFN α 2a--HL2-- 抗 CD40_HC	IFN β --HL2-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S-- HL2-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S,N80Q-- HL2-- 抗 CD40_HC	IFN γ --HL2-- 抗 CD40_HC	IFN λ 2--HL2-- 抗 CD40_HC
(G4S)2 接头	IFN α 2a-- (G4S)2-- 抗 CD40_HC	IFN β --(G4S)2-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S-- (G4S)2-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S,N80Q-- (G4S)2-- 抗 CD40_HC	IFN γ --(G4S)2-- 抗 CD40_HC	IFN λ 2--(G4S)2-- 抗 CD40_HC
(G4S)3 接头	IFN α 2a-- (G4S)3-- 抗 CD40_HC	IFN β --(G4S)3-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S-- (G4S)3-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S,N80Q-- (G4S)3-- 抗 CD40_HC	IFN γ --(G4S)3-- 抗 CD40_HC	IFN λ 2--(G4S)3-- 抗 CD40_HC
(G4S)4 接头	IFN α 2a-- (G4S)4-- 抗 CD40_HC	IFN β --(G4S)4-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S-- (G4S)4-- 抗 CD40_HC	IFN β _C17S,N80Q-- (G4S)4-- 抗 CD40_HC	IFN γ --(G4S)4-- 抗 CD40_HC	IFN λ 2--(G4S)4-- 抗 CD40_HC

[0197]

B	IFNϵ	IFNω
RL 接头	IFN ϵ --RL-- 抗 CD40_HC	IFN ω --RL-- 抗 CD40_HC
GST 接头	IFN ϵ --GST-- 抗 CD40_HC	IFN ω --GST-- 抗 CD40_HC
HL 接头	IFN ϵ --HL-- 抗 CD40_HC	IFN ω --HL-- 抗 CD40_HC
HL2 接头	IFN ϵ --HL2-- 抗 CD40_HC	IFN ω --HL2-- 抗 CD40_HC
(G4S)2 接头	IFN ϵ --(G4S)2-- 抗 CD40_HC	IFN ω --(G4S)2-- 抗 CD40_HC
(G4S)3 接头	IFN ϵ --(G4S)3-- 抗 CD40_HC	IFN ω --(G4S)3-- 抗 CD40_HC
(G4S)4 接头	IFN ϵ --(G4S)4-- 抗 CD40_HC	IFN ω --(G4S)4-- 抗 CD40_HC

[0198] 在某些优选的实施方式中,将IFN通过接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的C-末端,如在表5A或表5B中所示。在这些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链可以包含SEQ ID NO 3中所示序列。在其它实施方式中,轻链可以包含SEQ ID NO 59中所示序列。IFN α 2a可以包含SEQ ID NO 17中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14中所示序列。IFN β _C17S可以包含SEQ ID NO 15中所示序列。IFN β _C17S,N80Q可以包含SEQ ID NO 16中所示序列。IFN γ 可以包含SEQ ID NO 19中所示序列。IFN λ 2可以包含SEQ ID NO 18中所示序列。IFN ϵ 可以包含SEQ ID NO 80中所示序列。IFN ω 可以包含SEQ ID NO 79中所示序列。所提及的接头是表7中所列的那些。

[0199] 在其中将IFN融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的C-末端的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白还包括激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。在更具体的实施方式中,轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列并且重链包含

SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 48、SEQ ID NO 50或者SEQ ID NO 12中所示序列。在其它更具体的实施方式中,轻链包含SEQ ID NO 59中所示序列并且重链包含SEQ ID NO 61、SEQ ID NO 63或者SEQ ID NO 65中所示序列。

[0200] 表5.融合至抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的C-末端的干扰素或其功能性片段。

A	IFNα2a	IFNβ	IFNβ_C17S	IFNβ_C17S,N80Q	IFNγ	IFNλ2
RL接头	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN α 2a	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN β	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN β _C17S	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN γ	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN λ 2
GST接头	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN α 2a	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN β	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN β _C17S	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN γ	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN λ 2
HL接头	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN α 2a	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN β	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN β _C17S	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN γ	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN λ 2
HL2接头	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN α 2a	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN β	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN β _C17S	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN γ	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN λ 2
(G4S)2接头	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN α 2a	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN β	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN β _C17S	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN γ	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN λ 2
(G4S)3接头	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN α 2a	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN β	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN β _C17S	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN γ	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN λ 2
(G4S)4接头	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN α 2a	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN β	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN β _C17S	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN β _C17S,N80Q	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN γ	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN λ 2

[0201]

B	IFNϵ	IFNω
RL接头	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN ϵ	抗 CD40 _{LC} --RL--IFN ω
GST接头	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN ϵ	抗 CD40 _{LC} --GST--IFN ω
HL接头	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN ϵ	抗 CD40 _{LC} --HL--IFN ω
HL2接头	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN ϵ	抗 CD40 _{LC} --HL2--IFN ω
(G4S)2接头	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN ϵ	抗 CD40 _{LC} --(G4S)2--IFN ω
(G4S)3接头	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN ϵ	抗 CD40 _{LC} --(G4S)3--IFN ω
(G4S)4接头	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN ϵ	抗 CD40 _{LC} --(G4S)4--IFN ω

[0202]

[0203] 在某些优选的实施方式中,将IFN通过接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端,如表6A或表6B中所示。在这些实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链可以包含SEQ ID NO 3或SEQ ID NO 59中所示序列。IFN α 2a可以包含SEQ ID NO 17中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。IFN β 可以包含SEQ ID NO 14中所示序列。IFN β _C17S可以包含SEQ ID NO 15中所示序列。IFN β _C17S,N80Q可以包含SEQ ID NO 16中所示序列。IFN γ 可以包含SEQ ID NO 19中所示序列。IFN λ 2可以包含SEQ ID NO 18中所示序列。IFN ϵ 可以包含SEQ ID NO 80中所示序列。IFN ω 可以包含SEQ ID NO 79中所示序列。所提及的接头是表7

中所列的那些。

[0204] 在其中将IFN融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白还包括激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链。在更具体的实施方式中,轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列并且重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 48、SEQ ID NO 12或SEQ ID NO 50中所示序列。在其它更具体的实施方式中,轻链包含SEQ ID NO 59中所示序列并且重链包含SEQ ID NO 61、SEQ ID NO 63或SEQ ID NO 65中所示序列。

[0205] 表6.融合至抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端的干扰素或其功能性片段。

[0206]

A	IFNα2a	IFNβ	IFNβ_C17S	IFNβ_C17S,N80Q	IFNγ	IFNλ2
RL接头	IFN α 2a--RL--抗 CD40_LC	IFN β --RL--抗 CD40_LC	IFN β _C17S--RL--抗 CD40_LC	IFN β _C17S,N80Q--RL--抗 CD40_LC	IFN γ --RL--抗 CD40_LC	IFN λ 2--RL--抗 CD40_LC
GST接头	IFN α 2a--GST--抗 CD40_LC	IFN β --GST--抗 CD40_LC	IFN β _C17S--GST--抗 CD40_LC	IFN β _C17S,N80Q--GST--抗 CD40_LC	IFN γ --GST--抗 CD40_LC	IFN λ 2--GST--抗 CD40_LC
HL接头	IFN α 2a--HL--抗 CD40_LC	IFN β --HL--抗 CD40_LC	IFN β _C17S--HL--抗 CD40_LC	IFN β _C17S,N80Q--HL--抗 CD40_LC	IFN γ --HL--抗 CD40_LC	IFN λ 2--HL--抗 CD40_LC
HL2接头	IFN α 2a--HL2--抗 CD40_LC	IFN β --HL2--抗 CD40_LC	IFN β _C17S--HL2--抗 CD40_LC	IFN β _C17S,N80Q--HL2--抗 CD40_LC	IFN γ --HL2--抗 CD40_LC	IFN λ 2--HL2--抗 CD40_LC
(G4S)2接头	IFN α 2a--(G4S)2--抗 CD40_LC	IFN β --(G4S)2--抗 CD40_LC	IFN β _C17S--(G4S)2--抗 CD40_LC	IFN β _C17S,N80Q--(G4S)2--抗 CD40_LC	IFN γ --(G4S)2--抗 CD40_LC	IFN λ 2--(G4S)2--抗 CD40_LC
(G4S)3接头	IFN α 2a--(G4S)3--抗 CD40_LC	IFN β --(G4S)3--抗 CD40_LC	IFN β _C17S--(G4S)3--抗 CD40_LC	IFN β _C17S,N80Q--(G4S)3--抗 CD40_LC	IFN γ --(G4S)3--抗 CD40_LC	IFN λ 2--(G4S)3--抗 CD40_LC
(G4S)4接头	IFN α 2a--(G4S)4--抗 CD40_LC	IFN β --(G4S)4--抗 CD40_LC	IFN β _C17S--(G4S)4--抗 CD40_LC	IFN β _C17S,N80Q--(G4S)4--抗 CD40_LC	IFN γ --(G4S)4--抗 CD40_LC	IFN λ 2--(G4S)4--抗 CD40_LC

[0207]

B	IFNϵ	IFNω
RL接头	IFN ϵ --RL--抗 CD40_LC	IFN ω --RL--抗 CD40_LC
GST接头	IFN ϵ --GST--抗 CD40_LC	IFN ω --GST--抗 CD40_LC
HL接头	IFN ϵ --HL--抗 CD40_LC	IFN ω --HL--抗 CD40_LC
HL2接头	IFN ϵ --HL2--抗 CD40_LC	IFN ω --HL2--抗 CD40_LC
(G4S)2接头	IFN ϵ --(G4S)2--抗 CD40_LC	IFN ω --(G4S)2--抗 CD40_LC
(G4S)3接头	IFN ϵ --(G4S)3--抗 CD40_LC	IFN ω --(G4S)3--抗 CD40_LC
(G4S)4接头	IFN ϵ --(G4S)4--抗 CD40_LC	IFN ω --(G4S)4--抗 CD40_LC

[0208] 表7列出了包含在本发明的干扰素相关抗原结合蛋白或其前体中的示例性序列。

[0209] 在示例性优选实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有选自SEQ ID NO 28-47或SEQ ID NO 66-75的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激

动性抗原结合片段。在其它示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有选自SEQ ID NO 81-88的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。在示例性优选实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有选自SEQ ID NO 28-47或SEQ ID NO 66-75的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。在其它示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有选自SEQ ID NO 81-88的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0210] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 81中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 81中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0211] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 82中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 82中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0212] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 83中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 83中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0213] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 84中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 84中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0214] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 85中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 85中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0215] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 86中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 86中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0216] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 87中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 87中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0217] 在某些示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 88中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个示例性实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 88中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0218] 在更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有选自SEQ ID NO 38、

SEQ ID NO 39、SEQ ID NO 40、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42或SEQ ID NO 43的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。在更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有选自SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、SEQ ID NO 40、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42或SEQ ID NO 43的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。在其它更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有选自SEQ ID NO 72、SEQ ID NO 73、SEQ ID NO 74和SEQ ID NO 75的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。在其它更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白为含有选自SEQ ID NO 72、SEQ ID NO 73、SEQ ID NO 74和SEQ ID NO 75的序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0219] 在更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 38中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 38中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0220] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 39中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 39中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0221] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 40中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 40中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0222] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 41中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 41中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0223] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 42中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 42中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0224] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 43中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 43中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0225] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 72中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 72中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0226] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 73

中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 73中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0227] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 74中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 74中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0228] 在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白包含含有SEQ ID NO 75中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。在另一个更优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白是含有SEQ ID NO 75中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性结合片段。

[0229] 表7. 基于抗CD40抗体CP870,893的示例性干扰素相关抗原结合蛋白及其组分的序列。斜体序列对应于信号肽。SEQ ID NO 3和6中的粗斜体序列对应于CDR区。粗非斜体序列对应于接头。对突变的氨基酸加下划线。

[0230]

名称/SEQ ID 编号	序列
信号肽 1 (SEQ ID NO 1)	<i>MGWSCILFLVATATGVHS</i>
信号肽 2 (SEQ ID NO 2)	<i>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARC</i>
抗 CD40 抗体轻链 (SEQ ID NO 3)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITC <i>RASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC</i>
具有信号肽 1 的抗 CD40 抗体轻链 (SEQ ID NO 4)	<i>MGWSCILFLVATATGVHSDIQMTQSPSSVSASVGDRTITC</i> RASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
具有信号肽 2 的抗 CD40 抗体轻链 (SEQ ID NO 5)	<i>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCDIQMTQSPSSVSASVGDRTITC</i> RASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗 CD40 抗体重链 hIgG2 dK (SEQ ID NO 6)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYA <i>QKFQGR</i> VTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARD <i>QPLGYCTNGVCSYFDY</i> WGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNT

	KVDKTVVERKCCVECPAPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFR VVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPRE PQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN NYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
具有信号肽 1 的抗 CD40 抗体 重链 hIgG2 dK (SEQ ID NO 7)	<i>MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG</i> <i>YTFTGYMHVWRQAPGGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGR</i> <i>VTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVC</i> <i>SYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV</i> <i>KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSS</i> <i>NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKCCVECPAPPCAPPVAGPS</i> <i>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE</i> <i>VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSN</i> <i>KGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK</i> <i>GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDK</i> <i>SRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
具有信号肽 2 的抗 CD40 抗体 重链 hIgG2 dK (SEQ ID NO 8)	<i>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC</i> <i>KASGYTFTGYMHVWRQAPGGLEWMGWINPDSGGTNYAQK</i> <i>FQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCT</i> <i>NGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA</i> <i>LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV</i> <i>TVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKCCVECPAP</i> <i>PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNW</i> <i>YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEY</i> <i>KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVS</i> <i>LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYS</i> <i>KLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</i>
抗 CD40 抗体重链 hIgG2 (SEQ ID NO 9)	<i>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPG</i> <i>QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN</i> <i>RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA</i> <i>STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL</i> <i>TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSN</i> <i>TKVDKTVVERKCCVECPAPPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT</i> <i>PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF</i> <i>RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR</i> <i>EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE</i> <i>NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA</i> <i>LHNHYTQKSLSLSPGK</i>
具有信号肽 1 的抗 CD40 抗体 重链 hIgG2 (SEQ ID NO 10)	<i>MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG</i> <i>YTFTGYMHVWRQAPGGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGR</i> <i>VTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVC</i> <i>SYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV</i> <i>KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSS</i> <i>NFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKCCVECPAPPCAPPVAGPS</i> <i>VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVE</i> <i>VHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSN</i>

[0231]

[0232]

	KGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVK GFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
具有信号肽 2 的抗 CD40 抗体 重链 hIgG2 (SEQ ID NO 11)	<i>MDMRVPAQLLGLLLWLRGARCQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSC</i> KASGYTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQK FQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCT NGVCSYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVKCCVECPAP PVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQV SLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYS KLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKLSLSPGK
抗 CD40 抗体 hIgG1 重链 -NNAS (SEQ ID NO 48)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY <u>NNAS</u> RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKLSLSPGK
抗 CD40 抗体 hIgG1 重链 -NNAS-dK (SEQ ID NO 49)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSN TKVDKKEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY <u>NNAS</u> RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKLSLSPG
抗 CD40 抗体 hIgG2 Fab 区重 链 (SEQ ID NO 12)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYMHVWRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSN TKVDKTVKCCVE
具有信号肽 1 的抗 CD40 抗体 hIgG2 Fab 区重链 (SEQ ID NO 13)	<i>MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASG</i> YTFTGYMHVWRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGR VTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVC SYFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS

[0233]

	NFGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKTVKCCVE
抗 CD40 抗体 hIgG2 Fab 区重链 --TEV--6His 标签 (SEQ ID NO 50)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFGQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVKCCVEENLYFQSHHHHHH
IFN β dM (SEQ ID NO 76)	SYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIK QLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIFRQDSSSTGWNIVENLLAN VYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLK AKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
IFN β dM C17S (SEQ ID NO 77)	SYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIK QLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIFRQDSSSTGWNIVENLLAN VYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLK AKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
IFN β (SEQ ID NO 14)	MSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEI KQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIFRQDSSSTGWNIVENLLA NVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYL KAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
IFN β C17S (SEQ ID NO 15)	MSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEI KQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIFRQDSSSTGWNIVENLLA NVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYL KAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
IFN β C17S,N80Q (SEQ ID NO 16)	MSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEI KQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIFRQDSSSTGWQETIVENLLA NVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYL KAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
IFN α 2a (SEQ ID NO 17)	CDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFG NQFQKAETIPVLHEMIQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELY QQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEK KYSPCAWEVVRRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE
IFN λ 2 (SEQ ID NO 18)	VPVARLHGALPDARGCHIAQFKSLSPQELQAFKRAKDALEESLL LKDCRCHSRLFPRTWDLRQLQVRERPMALEAELALTLKVLEAT ADTDPALVDVLDQPLHLHHILSQFRACIQPQPTAGPRTRGRLLH WLYRLQEAPKKESPGCLEASVTFNLFRLLRDLNLCVASGDLCV
IFN γ (SEQ ID NO 19)	QDPYVKEAENLKKYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRK IMQSQVSYFYKFLKFNKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKK RDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIVMAELSPAAKTGKRKRS QMLFRGRRASQ
IFN ω (SEQ ID NO 79)	LGCDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRISPFLCLKDRRDFRFPQEM VKGSQLQKAHVMSVLHEMLQQIFSLFHTERSAAWNMTLLDQL HTGLHQQLQHLETCLLQVVGEGESAGAISSPALTRRYFQGIRV YLKEKKYSDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQERLRSKDRDLGSS
IFN ϵ (SEQ ID NO 80)	LDLKLIFQQRQVNQESLKLLNKLQTLISIQCLPHRKNFLLPQKSL SPQQYQKGHTLAILHEMLQQIFSLFRANISLDGWEENHTEKFLIQ LHQQLEYLEALMGLEAEKLSGTLGSDNLRLLQVKMYFRRIHDYL

[0234]

	ENQDYSTCAWAIVQVEISRCLFFVFLTEKLSKQGRPLNDMKQE LTTEFRSPR
RL 接头 (SEQ ID NO 20)	PAPA
GST 接头 (SEQ ID NO 21)	SGGTSGSTSGTGS
HL 接头 (SEQ ID NO 22)	AEAAAKEAAKA
HL2 接头 (SEQ ID NO 23)	AEAAAKEAAKAAEAAAKEAAKA
(G4S)2 接头 (SEQ ID NO 24)	GGGSGGGGS
(G4S)3 接头 (SEQ ID NO 25)	GGGSGGGGSGGGGS
(G4S)4 接头 (SEQ ID NO 26)	GGGSGGGGSGGGGSGGGGS
TEV-6His 标签 (SEQ ID NO 27)	ENLYFQSHHHHHH
抗 CD40 _{LC} -- HL--IFN β (SEQ ID NO 28)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC AEAAAKEAA AK AMSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDI PEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIQRDSSSTGWNENITVEN LLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRIL HYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
抗 CD40 _{LC} -- HL--IFN β _C17S (SEQ ID NO 29)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC AEAAAKEAA AK AMSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDI PEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIQRDSSSTGWNENITVEN LLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRIL HYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN
抗 CD40 _{hIgG2} -- dK _{HC} --RL-- IFN β (SEQ ID NO 30)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHVVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVVSSA STKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSN TKVDKTVRKKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR

[0235]

	<p>EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGPAPAMSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQL NGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFKEDAALTIYEMLQNFIFAI FRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTR GKLMSSLHLKRYYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFI NRLTGYLRN</p>
<p>抗 CD40_hIgG2_ dK_HC--RL-- IFNβ_C17S (SEQ ID NO 31)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGPAPAMSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLN GRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFKEDAALTIYEMLQNFIFAI RQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRG KLMSSLHLKRYYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINR LTGYLRN</p>
<p>抗 CD40_hIgG2_ dK_HC--HL-- IFNβ (SEQ ID NO 32)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGAEAAAKEAAKAMSYNLLGFLQRSSNFQ CQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFKEDAALTIY EMLQNFIFAIRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEK LEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVE ILRNIFYFINRLTGYLRN</p>
<p>抗 CD40_hIgG2_ dK_HC--HL-- IFNβ_C17S (SEQ ID NO 33)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA</p>

[0236]

	LHNHYTQKSLSPGAEAAAKEAAAKAMSYNLLGFLQRSSNFQ SQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIY EMLQNIFAIFRQDSSSTGWNENETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEK LEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVE ILRNIFYFINRLTGYLRN
抗 CD40 _{LC} -- RL--IFN β (SEQ ID NO 34)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC PAP AMSYNL LGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQ FQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNENETIVENLLANVYHQ INHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYYGRILHYLKAKEY SHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRN
抗 CD40 _{LC} -- RL--IFN β _C17S (SEQ ID NO 35)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC PAP AMSYNL LGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQ FQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNENETIVENLLANVYHQ INHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYYGRILHYLKAKEY SHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRN
抗 CD40 _{LC} -- GST--IFN β _C17S (SEQ ID NO 36)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC SGGTS GTGS MSYNTLGLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNF IPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQDSSSTGWNENETIVE NLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYYGRI LHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRN
抗 CD40 _{LC} -- HL2--IFN β _C17S (SEQ ID NO 37)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC AEAAAKEAA AKAAEAAAKEAAAK AMSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGR LEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLQNIFAIFRQ DSSSTGWNENETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLM SSLHLKRYYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLT GYLRN
抗 CD40 _{hIgG2} -- dK _{HC} --(G4S) ₂ --IFN α _{2a} (SEQ ID NO 38)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFGGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFNGTQTYTCNVDHKPSN

	<p>TKVDKTVERKCCVECPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMML AQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQI FNLFS TKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLNDLEACVIQGVGVT TPLMKEDSILAVRKYFQRTITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFS LSTNLQESLSRKE</p>
<p>抗 CD40_hIgG2_ dK_HC--(G4S)3-- IFNα2a (SEQ ID NO 39)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSN TKVDKTVERKCCVECPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSCDLPQTHSLGSRRT LMMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLE MIQQIFNLFS TKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLNDLEACVIQ VGTETPLMKEDSILAVRKYFQRTITLYLKEKKYSPCAWEVVRAE IMRSFSLSTNLQESLSRKE</p>
<p>抗 CD40_hIgG2_ dK_HC--(G4S)4-- IFNα2a (SEQ ID NO 40)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSN TKVDKTVERKCCVECPCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSCDLPQTH SLGSRRTLMMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQAE TIPVLHEMIQQIFNLFS TKDSSAAWDETLDDKDYTELYQQLNDLE ACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRTITLYLKEKKYSPCAW EVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE</p>
<p>抗 CD40_LC-- (G4S)2--IFNα2a (SEQ ID NO 41)</p>	<p>DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIY TASTLQSGVPSRFSGSGSDFTLTISLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGECGGGGSGGG GSCDLPQTHSLGSRRTLMMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFGFPQEEF GNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFS TKDSSAAWDETLDDKDYTEL YQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRTITLYLKE</p>

[0237]

[0238]

	KKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE
抗 CD40 _{LC} -- (G4S)3--IFN α 2a (SEQ ID NO 42)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC GGGGSGGG GSGGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFG FPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLD KFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRI TLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE
抗 CD40 _{LC} -- (G4S)4--IFN α 2a (SEQ ID NO 43)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC GGGGSGGG GSGGGGSGGGGSCDLPQTHSLGSRRTLMMLLAQMRKISLFSCLK DRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAW DETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTTETPLMKEDSILAVR KYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE
IFN β --(G4S)3-- 抗 CD40 _{LC} (SEQ ID NO 44)	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEI KQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIQRDSSSTGWNETIVENLLA NVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYL KAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYL RNGGGSGGGG GGGGSDIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGIYSWLAWYQQ KPGKAPNLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFA TYYCQQANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTA SVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSSTLTLKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
抗 CD40 _{LC} -- (G4S)4--IFN β (SEQ ID NO 45)	DIQMTQSPSSVSASVGDRVITICRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC GGGGSGGG GSGGGGSGGGGMSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEY CLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIQRDSS TGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSL HLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYL R
IFN β --(G4S)3-- 抗 CD40 _{HC} Ig G1 _{NNAS} dK (SEQ ID NO 46)	MSYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEI KQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIQRDSSSTGWNETIVENLLA NVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYL KAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYL RNGGGSGGGG GGGGSQVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHW VRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFKGRVTMTRDTSISTA YMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGL VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVS WNSGALTSQVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNV

[0239]

	<p>NHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNNASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</p>
<p>抗 CD40_HC_IgG1_NNAS_dK--(G4S)4--IFNβ (SEQ ID NO 47)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNNASRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSMYNYLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKQLQQFQKEDAALTIYEMLNIFAIFRQDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLKRYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNIFYFINRLTGYLRLN</p>
<p>抗 CD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFNα2A (SEQ ID NO 81)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPGQGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELNRLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGAEAAAKEAAAKACDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRSKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE</p>
<p>抗 CD40_LC-衍生物--HL--IFNα2A (SEQ ID NO 82)</p>	<p>DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAPNLLIYTAASLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPEDFATYYCQQANIFPLTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEKLSLSLSPGAEAAAKEAAAKACDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRSKISLFSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLSRKE</p>

[0240]

<p>抗 CD40_{LC}-- (G4S)₄--IFNγ (SEQ ID NO 83)</p>	<p>DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGG GSGGGSGGGGSQDPYVKEAENLKKEYFNAGHSDVADNGTLFL GILKNWKEESDRKIMQSQIVSFYFKLFKFKDDQSIQKSVETIKE DMNVKFFNSNKKRDDFEKLTNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMA ELSPAAGTKRKRSQLFRGRASQ</p>
<p>抗 CD40_{hIgG2} dK_{HC}--(G4S)₄-- IFNγ (SEQ ID NO 84)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFGQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSQDPYVKE AENLKKEYFNAGHSDVADNGTLFLGILKNWKEESDRKIMQSQIVS FYFKLFKFKDDQSIQKSVETIKEDMNVKFFNSNKKRDDFEKLT TNYSVTDLNVQRKAIHELIQVMAELSPAAGTKRKRSQLFRG RRASQ</p>
<p>抗 CD40_{LC}-- (G4S)₄--IFNλ₂ (SEQ ID NO 85)</p>	<p>DIQMTQSPSSVSASVGDRVITITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGGG GSGGGSGGGGSVVARLHGALPDARGCHIAQFKSLSPQELQA FKRAKDALEESLLLKDCRCHSRLFPRTWDLRQLQVRERPMAL AELALTLKVLATADTDPALVDVLDQPLHTLHHLSQFRACIQPQ PTAGPRTRGRLHHWLYRLQEAPKKESPGCLEASVTFNLFRLLTR DLNCVASGDLCV</p>
<p>抗 CD40_{hIgG2} dK_{HC}--(G4S)₄-- IFNλ₂ (SEQ ID NO 86)</p>	<p>QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFGQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLVTVSSA STKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDPKPSN TKVDKTVKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVDFCSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGGSVVARLH GALPDARGCHIAQFKSLSPQELQAFKRAKDALEESLLLKDCRCH SRLFPRTWDLRQLQVRERPMALAEALALTLKVLATADTDPALV DVLDQPLHTLHHLSQFRACIQPQPTAGPRTRGRLHHWLYRLQE</p>

[0241]

	APKKESPGCLEASVTFNLFRLLRDLNLCVASGDLCV
抗 CD40 _{LC} -- (G4S) ₄ --IFN _ω (SEQ ID NO 87)	DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQGIYSWLAWYQQKPGKAP NLLIYTASTLQSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPEDFATYYCQQ ANIFPLTFGGGKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC GGGGSGGG GSGGGSGGGGSL GCDLPQNHGLLSRNTLVLLHQMRRI SPFLC LKDRRDFRFPQEMVKGSQKQAHVMSVLHEMLQQIFSLFHTERS SAAWNMTLLDQLHTGLHQQLHLETCLLQVVGEGESAGAISSP ALTLRRYFQGRVYLKEKKYSDCAWEVVRMEIMKSLFLSTNMQ ERLRSKDRDLGSS
抗 CD40 _{hIgG2} dK _{HC} --(G4S) ₄ -- IFN _ε (SEQ ID NO 88)	QVQLVQSGAEVKKPGASVKVSCKASGYTFTGYYMHWVRQAPG QGLEWMGWINPDSGGTNYAQKFQGRVTMTRDTSISTAYMELN RLRSDDTAVYYCARDQPLGYCTNGVCSYFDYWGQGLTVTVSSA STKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGAL TSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVDHKPSN TKVDKTVVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPE VTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTF RVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTIKTKGQPR EPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE NNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSLDLKLIIF QQRQVNQESLKLNLQTLISIQCLPHRKNFLLPQKSLSPQQYQ KGHTLAILHEMLQQIFSLFRANISLDGWEENHTEKFLIQLHQLE YLEALMGLEAEKLSGTLGSDNLRQLVKMYFRRIHDYLENQDYS TCAWAIVQVEISRCLFFVFSLTEKLSKQGRPLNDMKQELTTEFRS PR

[0242] 表8. 基于抗CD40抗体3G5的示例性干扰素相关抗原结合蛋白及其组分的序列。斜体序列对应于信号肽。粗非斜体序列对应于接头。对突变的氨基酸加下划线。

[0243]

名称/SEQ ID 编号	序列
抗 CD40 _{轻链} (SEQ ID NO 59)	EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAP RLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTINSLQSEDFAVYYCQQ HNKWITFGQGRTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
具有信号肽 1 的抗 CD40 _{轻链} (SEQ ID NO 60)	<i>MGW</i> SC <i>ILFLVATATGVH</i> SEIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQ SVRSNLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFT LTINSLQSEDFAVYYCQQHNKWITFGQGRTRLEIKRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE SVTEQDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPV TKSFNRGEC

[0244]

抗 CD40 重链 hIgG2 dK (SEQ ID NO 61)	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWRQAPGK GLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVD KTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTIKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPG
具有信号肽 1 的抗 CD40_重 链 hIgG2 dK (SEQ ID NO 62)	MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASG FTFSSNGIHWRQAPGKGLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTI SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYW GQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQ TYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNA KTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPA PIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
抗 CD40 抗体 Fab 区重链 hIgG2 (SEQ ID NO 63)	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWRQAPGK GLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVD KTKVERKCCVE
具有信号肽 1 的抗 CD40 抗体 Fab 区重链 hIgG2 (SEQ ID NO 64)	MGWSCILFLVATATGVHSQVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASG FTFSSNGIHWRQAPGKGLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTI SRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYW GQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPE PVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQ TYTCNVDPKPSNTKVDKTKVERKCCVE
抗 CD40 抗体 Fab 区重链 hIgG2 --TEV--6His 标签 (SEQ ID NO 65)	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWRQAPGK GLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVD KTKVERKCCVEENLYFQSHHHHHH
抗 CD40_hIgG2 dK_HC--RL--IFNβdM (SEQ ID NO 66)	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWRQAPGK GLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVD KTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS

[0245]

	<p>VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGPAPASYNLLGFLQRSSNFQCQKLLWQLNGRLE YCLKDRMNFDIPEEIKLQ^QQFQKEDAALTIYEMLQ^NIFAIFRQDS SSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMS SLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRN^FYFINRLTGY LRN</p>
<p>抗 CD40_hIgG2 dK_HC--RL--IFNβdM_C17S (SEQ ID NO 67)</p>	<p>QVQLVESGGGVVQPGKSLRSLCAASGFTFSSNGIHWVRQAPGK GLEWVAVIWSGDSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV^DHKPSNTKVD KTV^REKCCV^ECP^PCP^APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGPAPASYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLE YCLKDRMNFDIPEEIKLQ^QQFQKEDAALTIYEMLQ^NIFAIFRQDS SSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMS SLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRN^FYFINRLTGY LRN</p>
<p>抗 CD40_hIgG2 dK_HC--HL--IFNβdM (SEQ ID NO 68)</p>	<p>QVQLVESGGGVVQPGKSLRSLCAASGFTFSSNGIHWVRQAPGK GLEWVAVIWSGDSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVTVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV^DHKPSNTKVD KTV^REKCCV^ECP^PCP^APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGQNVFSCSVMHEALHN HYTQKSLSLSPGAEAAAKEAAAKASYNLLGFLQRSSNFQCQKL LWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKLQ^QQFQKEDAALTIYEMLQ NIFAIFRQDSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKE DFTRGKLMSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRN FYFINRLTGYLRN</p>

[0246]

<p>抗 CD40_hIgG2 dK_HC--HL--IFNβdM_C17S (SEQ ID NO 69)</p>	<p>QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWVRQAPGK GLEWVAVIWSGDSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVD KTVVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPGAEAAAKEAAKASYNLLGFLQRSSNFQSQKL LWQLNGRLEYCLKDRMNFDIPEEIKLQFQKEDAAALTIYEMLQ NIFAIQRDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKE DFTRGKLMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRN FYFINRLTGyLRN</p>
<p>抗 CD40_LC-- HL2--IFNβ_C17S (SEQ ID NO 70)</p>	<p>EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAP RLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTINSLQSEDFAVYYCQQ HNKWITFGQGRTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECAEAAAKEA AAKAAEAAAKEAAKAMSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNG RLEYCLKDRMNFDIPEEIKLQFQKEDAAALTIYEMLQINFAIFR QDSSSTGWNETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGK LMSSLHLKRYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNFYFINRL TGyLRN</p>
<p>抗 CD40_LC-- (G4S)3--IFNβ_C17S (SEQ ID NO 71)</p>	<p>EIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRASQSVRSNLAWYQQKPGQAP RLLIYGASTRATGIPARFSGSGSGTEFTLTINSLQSEDFAVYYCQQ HNKWITFGQGRTRLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLL NNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTL TLISKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGECGGGGSGG GGSGGGGSMSYNLLGFLQRSSNFQSQKLLWQLNGRLEYCLKD RMNFDIPEEIKLQFQKEDAAALTIYEMLQINFAIFRQDSSSTGW NETIVENLLANVYHQINHLKTVLEEKLEKEDFTRGKLMSSLHLK RYYGRILHYLKAKEYSHCAWTIVRVEILRNFYFINRLTGyLRN</p>
<p>抗 CD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)2--IFNα2a (SEQ ID NO 72)</p>	<p>QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWVRQAPGK GLEWVAVIWSGDSNKFYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSL RAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVVSSASTKGPS VFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVH TFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDPKPSNTKVD KTVVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTC VVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQ VYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHN HYTQKSLSLSPGGGGGSGGGGSCDLPQTHSLGSRRTMLLAQM RKISLFSCLKDRHDFGFQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLF STKDSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGTETPL MKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMRSFSL</p>

[0247]

	TNLQESLRSKE
抗 CD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)3--IFN α 2a (SEQ ID NO 73)	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWRQAPGK GLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHPKPSNTKVDKTVRKCCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGG SGGGG SCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCL KDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLF STKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVG VTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEV VRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE
抗 CD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFN α 2a (SEQ ID NO 74)	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWRQAPGK GLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHPKPSNTKVDKTVRKCCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG GGGGSGGGG SGGGGSGGGG SCDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISL FSCLKDRHDFGFPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIF NLFSTKDSSAAWDETLLDKFYTELYQQLNDLEACV IQGVGVTTETPLMKEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKY SPCAWEVVRAEIMRSFSLSTNLQESLRSKE
抗 CD40_hIgG2 dK_HC--HL--IFN α 2a (SEQ ID NO 75)	QVQLVESGGGVVQPGKSLRLSCAASGFTFSSNGIHWRQAPGK GLEWVAVIWSDGSNKFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARASGSGSYNFFDYWGQGLTVSSASTK GPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSG ALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNV DHPKPSNTKVDKTVRKCCVECP PCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV SHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVS VLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQ PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG AEAAAKEAAK ACDLPQTHSLGSRRTLMLLAQMRKISLFSCLKDRHDFG FPQEEFGNQFQKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAA WDETLLDKFYTELYQQLNDLEACVIQGVGVTTETPLM KEDSILAVRKYFQRITLYLKEKKYSPCAWEVVRAEIMR SFSLSTNLQESLRSKE

[0248] 在优选的实施方式中,本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白是包含来源于以下表9,具体地表9A或表9B,更具体地表9A中所指明的那些的多肽,并且具体地来源于以上SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、SEQ ID NO 40、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42或SEQ ID NO 43所示多肽的多肽的干扰素融合的抗原结合蛋白。在优选的实施方式中,本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白是由来源于以下表9,具体地表9A或表9B,更具体地表9A中所指明的那些的多肽,并且具体地来源于以上SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、SEQ ID NO 40、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42或SEQ ID NO 43所示多肽的多肽所组成的干扰素融合的抗原结合蛋白。

在更优选的实施方式中,干扰素融合的抗体包含SEQ ID NO 38和SEQ ID NO 3中所示序列。在其它更优选的实施方式中,干扰素融合的抗体包含SEQ ID NO 39和SEQ ID NO 3中所示序列。在其它更优选的实施方式中,干扰素融合的抗体包含SEQ ID NO 40和SEQ ID NO 3中所示序列。在其它更优选的实施方式中,干扰素融合的抗体包含SEQ ID NO 41和SEQ ID NO 9中所示序列。在其它更优选的实施方式中,干扰素融合的抗体包含SEQ ID NO 42和SEQ ID NO 9中所示序列。在其它更优选的实施方式中,干扰素融合的抗体包含SEQ ID NO 43和SEQ ID NO 9中所示序列。

[0249] 表9. 基于抗CD40抗体CP870,893,存在于本发明优选的干扰素融合的抗原结合蛋白中的多肽组合,它们相对于CD40和IFN-通路的激活的平均 EC_{50} 值和它们的生产能力(即每升培养物的得率)。在各自IFA中包含两次如所指示的每种序列组合。SN:上清液。

[0250] A

干扰素融合的抗体(IFA)	序列组合	CD40 EC_{50} (ng/mL)	IFN β EC_{50} (ng/mL)	IFN α EC_{50} (ng/mL)	生产能力(mg/L)
IFA1	(SEQ ID NO 28) +(SEQ ID NO 9)	74,1	1,64		16,7
IFA2	(SEQ ID NO 29) +(SEQ ID NO 9)	111	0,14		17,8
IFA8	(SEQ ID NO 30) +(SEQ ID NO 3)	39,7	2,9		6,45
IFA9	(SEQ ID NO 31) +(SEQ ID NO 3)	42,6	0,7		3,4
IFA10	(SEQ ID NO 32) +(SEQ ID NO 3)	26,5	4,5		6,9

[0251]

[0252]

IFA11	(SEQ ID NO 33) +(SEQ ID NO 3)	42,8	1,78		5,1
IFA12	(SEQ ID NO 34) +(SEQ ID NO 9)	105	3,64		21,2
IFA13	(SEQ ID NO 35) +(SEQ ID NO 9)	192	0,7		11,5
IFA19	(SEQ ID NO 36) +(SEQ ID NO 9)	110	1,3		5,6
IFA20	(SEQ ID NO 37) +(SEQ ID NO 9)	182	2,34		4,2
IFA25	(SEQ ID NO 38) +(SEQ ID NO 3)	13,3		5,1	21
IFA26	(SEQ ID NO 39) +(SEQ ID NO 3)	15,35		4	8,6
IFA27	(SEQ ID NO 40) +(SEQ ID NO 3)	17		2,4	9,3
IFA28	(SEQ ID NO 41) +(SEQ ID NO 9)	12,8		4,5	75
IFA29	(SEQ ID NO 42) +(SEQ ID NO 9)	11,1		2	56,6
IFA30	(SEQ ID NO 43) +(SEQ ID NO 9)	11,3		1,6	46,6
IFA34	(SEQ ID NO 44) +(SEQ ID NO 49)	活性(SN)	活性(SN)		无明显产生
IFA35	(SEQ ID NO 45) +(SEQ ID NO 49)	活性(SN)	活性(SN)		无明显产生
IFA36	(SEQ ID NO 46) +(SEQ ID NO 3)	活性(SN)	活性(SN)		无明显产生
IFA37	(SEQ ID NO 47) +(SEQ ID NO 3)	活性(SN)	活性(SN)		无明显产生

[0253] B

[0254]

干扰素融合的抗体 (IFA)	序列组合	CD40 EC ₅₀ (ng/mL)	IFN α EC ₅₀ (ng/mL)	IFN λ EC ₅₀ (ng/mL)	IFN γ EC ₅₀ (ng/mL)	IFN ϵ EC ₅₀ (ng/mL)	IFN ω EC ₅₀ (ng/mL)	生产能力 (mg/L)
IFA38	(SEQ ID NO 81)+ (SEQ ID NO 3)	22.7	3.77					1.32
IFA39	(SEQ ID NO 82)+ (SEQ ID NO 9)	17.5	2.95					1.25

[0255]	IFA42	(SEQ ID NO 83)+ (SEQ ID NO 9)	65.6			15.4			0.72
	IFA43	(SEQ ID NO 84)+ (SEQ ID NO 3)	50.8			<0.001			0.55
	IFA44	(SEQ ID NO 85)+ (SEQ ID NO 9)	41.4		0.153				0.91
	IFA45	(SEQ ID NO 86)+ (SEQ ID NO 3)	25.8		<0.001				1.09
	IFA46	(SEQ ID NO 87)+ (SEQ ID NO 9)	86.3				0.493		0.89
	IFA49	(SEQ ID NO 88)+ (SEQ ID NO 3)	65.8				78.2		0.61
	IFA50	(SEQ ID NO 41)+ (SEQ ID NO 50)	128	1.36					0.57
	IFA51	(SEQ ID NO 42)+ (SEQ ID NO 50)	123	1.43					0.48

[0256] 在其它优选实施方式中,本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白是包含来源于下表10中所指明的那些的多肽的干扰素融合的抗原结合蛋白。在优选的实施方式中,本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白是由来源于下表10中所指明的那些的多肽所组成的干扰素融合的抗原结合蛋白。

[0257] 表10.基于抗CD40抗体3G5,存在于本发明优选的干扰素融合的抗原结合蛋白中的多肽组合,它们相对于CD40和IFN-通路的激活的平均EC₅₀值。在各自IFA中包含两次如所指示的每种序列组合。SN:上清液。

干扰素融合的抗体(IFA)	序列组合	CD40 EC ₅₀ (ng/mL)	IFN β EC ₅₀ (ng/mL)	IFN α EC ₅₀ (ng/mL)	生产能力 mg/L	
[0258]	IFA106	(seq ID NO 66) + (seq ID NO 59)	190,5	10,30		0,36
	IFA107	(seq ID NO 67) + (seq ID NO 59)	141,5	2,03		0,28
	IFA108	(seq ID NO 68) + (seq ID NO 59)	37,3	1,27		0,59
	IFA109	(seq ID NO 69) + (seq ID NO 59)	30	0,45		0,4
	IFA114	(seq ID NO 70) + (seq ID NO 61)	活性 (SN)	活性 (SN)		无明显产生
	IFA115	(seq ID NO 71) + (seq ID NO 61)	活性 (SN)	活性 (SN)		无明显产生

[0259]	IFA121	(seq ID NO 72) + (seq ID NO 59)	14,2		0,12	22,6
	IFA122	(seq ID NO 73) + (seq ID NO 59)	11,74		0,07	16,8
	IFA123	(seq ID NO 74) + (seq ID NO 59)	12,85		0,05	17,2
	IFA124	(seq ID NO 75) + (seq ID NO 59)	12,14		0,04	21,6

[0260] 核酸和表达载体

[0261] 在一个方面,提供了编码干扰素相关抗原结合蛋白的多核苷酸的组合。还提供了制备干扰素相关抗原结合蛋白的方法,其包括表达这些多核苷酸。

[0262] 在一些实施方式中,提供了如本文所公开的编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的IFN或其功能性片段的核酸。在某些示例性实施方式中,根据SEQ ID NO 81至88中所示的任何序列或者与编码任何这些序列的核酸具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的核酸序列,所述核酸编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的IFN或其功能性片段。在某些示例性实施方式中,所述核酸与编码任何SEQ ID NO 81至88的核酸具有至少95%、至少98%或至少99%的同一性。在优选的实施方式中,根据SEQ ID NO 28至47中所示的任何序列或者与编码任何这些序列的核酸具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的核酸序列,所述核酸编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的IFN或其功能性片段。在更具体的实施方式中,所述核酸与编码任何SEQ ID NO 28至47的核酸具有至少95%、至少98%或至少99%的同一性。在其它优选实施方式中,根据SEQ ID NO 66至75中所示的任何序列或者与编码任何这些序列的核酸具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的核酸序列,所述核酸编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的IFN或其功能性片段。在更具体的实施方式中,所述核酸与编码任何SEQ ID NO 66至75的核酸具有至少95%、至少98%或至少99%的同一性。

[0263] 在其中核酸编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的IFN或其功能性片段的那些实施方式中,核酸还可以编码激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链。在更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 10、SEQ ID NO 11、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 13、SEQ ID NO 48、SEQ ID NO 49或SEQ ID NO 50中所示序列或者与编码任何这些序列的核酸具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或至少99%的同一性的核酸序列。在更具体的实施方式中,所述核酸与编码SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 7、SEQ ID NO 8、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 10、SEQ ID NO 11、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 13、SEQ ID NO 48、SEQ ID NO 49或SEQ ID NO 50的核酸具有至少95%、至少98%或至少99%的同一性。在其它更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链包含SEQ ID NO 61、SEQ ID NO 62、SEQ ID NO 63、SEQ ID NO 64或者SEQ ID NO 65中所示序列,或者与编码任何这些序列的核酸具有至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、至少98%或者至少99%的同一性的核酸序列。在这些其它更具体的实施方式中,所述核酸与编码SEQ ID NO 61、SEQ ID NO 62、SEQ ID NO 63、SEQ ID NO 64或SEQ

ID NO 65的核酸具有至少95%、至少98%或至少99%的同一性。

[0264] 在其中核酸编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的IFN或其功能性片段的那些实施方式中,所述核酸还可以编码激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。在更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链包含SEQ ID NO 3、SEQ ID NO 4或SEQ ID NO 5中所示序列,或者与编码任何这些序列的核酸具有至少80%,至少85%,至少90%,至少95%,至少98%或者至少99%的同一性的核酸序列。在更具体的实施方式中,所述核酸与编码SEQ ID NO 3、SEQ ID NO 4或者SEQ ID NO 5的核酸具有至少95%、至少98%或至少99%的同一性。在其它更具体的实施方式中,激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链包含SEQ ID NO 59或SEQ ID NO 60中所示序列,或者与编码任何这些序列的核酸具有至少80%,至少85%,至少90%,至少95%,至少98%或者至少99%的同一性的核酸序列。在更具体的实施方式中,所述核酸与编码SEQ ID NO 59或者SEQ ID NO 60的核酸具有至少95%、至少98%或至少99%的同一性。

[0265] 在某些实施方式中,本文所描述的核酸可以包含编码提高得率(例如,溶解度标签)或者帮助所表达的蛋白纯化(即纯化标签)的序列的序列。纯化标签是本领域技术人员已知的并且可以选自谷胱甘肽S-转移酶(GST)标签、麦芽糖结合蛋白(MBP)标签、调钙蛋白结合肽(CBP)标签、内含肽(intein)-几丁质结合域(内含肽-CBD)标签、抗生蛋白链菌素/生物素基标签(如生物素化信号肽(BCCP)标签)、抗生蛋白链菌素-结合肽(SBP)标签、His-patch ThioFusion标签、串联亲和纯化(TAP)标签、小泛素样调节剂(SUMO)标签、HaloTag® (Promega)、Profinity eXact™系统(Bio-Rad)。在一些实施方式中,纯化标签可以是多组氨酸标签(例如,His₆-、His₇-、His₈-、His₉-或His₁₀-标签)。在其它实施方式中,纯化标签可以是Strep-标签(例如,Strep-tag®或者Strep-tag II®; IBA Life Sciences)。在其它实施方式中,纯化标签可以是麦芽糖结合蛋白(MBP)标签。

[0266] 在一些实施方式中,核酸序列还可以包含编码用于除去纯化标签的切割位点的序列。这些切割序列是本领域技术人员已知的并且可以选自内切蛋白酶或外切蛋白酶识别和切割的序列。在一些实施方式中,用于除去纯化标签的内切蛋白酶可以选自:肠肽酶、凝血酶、因子Xa、TEV蛋白酶或鼻病毒3C蛋白酶。在一些实施方式中,用于除去纯化标签的外切蛋白酶可以选自:羧肽酶A、羧肽酶B或者DAP酶。在优选的实施方式中,用于除去纯化标签的蛋白酶为TEV蛋白酶。在更具体的优选实施方式中,核酸包含编码His₆-标签和TEV切割位点的序列。在更具体的优选实施方式中,所述核酸包含编码SEQ ID NO 27中所示序列的序列。

[0267] 本发明的核酸分子还可以包含编码信号肽的序列。技术人员知道对于将所表达的蛋白引导至所期望的折叠位点、组装和/或成熟以及引起最终蛋白向培养基中的分泌以辅助下游过程可用的多种信号肽。因此,在一些实施方式中,信号肽是分泌性信号肽。所编码的信号肽可以包含SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:2中所示序列。在一些实施方式中,信号肽包含SEQ ID NO:1中所示序列。在其它实施方式中,信号肽包含SEQ ID NO:2中所示序列。

[0268] 将信号肽1(SEQ ID NO 1)用于合成如以下所示的多肽序列:SEQ ID NO 28、SEQ ID NO 29、SEQ ID NO 30、SEQ ID NO 31、SEQ ID NO 32、SEQ ID NO 33、SEQ ID NO 34、SEQ ID NO 35、SEQ ID 36、SEQ ID NO 37、SEQ ID NO 44、SEQ ID NO 45、SEQ ID NO 46、SEQ ID NO 47、SEQ ID NO 50、SEQ ID NO 65、SEQ ID NO 66、SEQ ID NO 67、SEQ ID NO 68、SEQ ID

NO 69、SEQ ID NO 70、SEQ ID NO 71、SEQ ID NO 72、SEQ ID NO 73、SEQ ID NO 74和SEQ ID NO 75。在合成期间切割初始存在于相应多肽序列的N-末端的这些信号肽。

[0269] 将信号肽2 (SEQ ID NO 2) 用于合成SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、SEQ ID NO 40、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42和SEQ ID NO 43中所示的多肽序列。在合成期间切割初始存在于相应多肽序列的N-末端的这些信号肽。

[0270] 对于SEQ ID NO 81、SEQ ID NO 82、SEQ ID NO 83、SEQ ID NO 84、SEQ ID NO 85、SEQ ID NO 86、SEQ ID NO 87和SEQ ID NO 88中所示的多肽序列的合成, 使用了信号肽MGWSCIIILFLVATATGVHS (SEQ ID NO 1)。在合成期间切割初始存在于相应多肽序列的N-末端的这些信号肽。

[0271] 通常将编码融合至如本文所公开的激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的IFN或其功能性片段的多核苷酸插入表达载体以用于引入到可以用于产生所期望的量的所要求保护的干扰素相关抗原结合蛋白的宿主细胞中。因此, 在某些方面, 本发明提供了包含本文所公开的多核苷酸的表达载体和包含这些载体和多核苷酸的宿主细胞。

[0272] 在本文中, 出于说明书和权利要求的目的使用术语“载体”或“表达载体”以表示根据本发明作为引入到并在细胞中表达所期望的基因的媒介物使用的载体。如本领域技术人员已知的, 这些载体可以容易地选自由质粒、噬菌体、病毒和反转录病毒组成的组。通常, 与本发明相容的载体将包含选择标志物、适合的限制性位点以有助于所期望的基因的克隆以及进入和/或在真核或原核细胞中复制的能力。

[0273] 多种表达载体体系可以用于本发明的目的。例如, 一类载体利用来源于动物病毒, 如牛乳头状瘤病毒、多形瘤病毒、腺病毒、牛痘病毒、杆状病毒、反转录病毒 (RSV、MMTV或MOMLV) 或者SV40病毒的DNA元件。其它包括具有内部核糖体结合位点的多顺反子系统的使用。另外, 可以通过引入允许选择转染的宿主细胞的一种或多种标志物来选择已将DNA整合到它们的染色体中的细胞。标志物可以为营养缺陷型宿主提供原养, 提供杀生物剂耐受性 (例如, 抗生素) 或者对重金属, 如铜的耐受性。可以将可选择标志物基因直接连接至要表达的DNA序列, 或者通过共转化引入相同细胞。对于mRNA的最优合成, 还可以需要其它元件。这些元件可以包括信号序列、剪接信号和转录启动子、增强子和终止信号。在一些实施方式中, 将克隆的可变区基因 (它们中的一个与编码IFN或其功能性片段的基因融合) 与如以上所讨论的合成的重链和轻链恒定区基因 (如人基因) 一起插入表达载体。

[0274] 在其它实施方式中, 本发明的载体体系可以包含多于一种载体。在一些实施方式中, 载体体系可以包含用于融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的IFN或其功能性片段的表达的第一载体和用于激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的IFN或其功能性片段的表达的第二载体。作为另外一种选择, 这种载体体系可以包含用于融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的IFN或其功能性片段的表达的第一载体和用于激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的IFN或其功能性片段的表达的第二载体。

[0275] 在其它实施方式中, 可以使用多顺反子构建体表达如本文所描述的干扰素相关抗原结合蛋白。在这些表达系统中, 可以从单一多顺反子构建体产生所关心的多基因产物, 如编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的IFN或其功能性片段和编码所述抗体的轻链的那些, 或者编码融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的IFN或其功能性片段和编码所述抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的那些。

这些系统有利地使用了内部核糖体进入位点 (IRES) 以在真核宿主细胞中提供相对高水平的多肽。在美国专利号6,193,980中公开了相容的IRES序列,该专利作为参考并入本文。本领域技术人员将理解这些表达系统可以用于有效产生在本申请中所公开的完整的多肽范围。

[0276] 更一般地,一旦制备了编码本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的载体或DNA序列,则可以将表达载体引入适合的宿主细胞。也就是说,可以转化宿主细胞。可以通过本领域技术人员熟知的多种技术来完成质粒向宿主细胞的引入。这些包括但不限于转染(包括电泳和电穿孔)、原生质体融合、磷酸钙沉淀、细胞与包膜DNA的融合、微注射和用完整病毒感染。参见,例如,Ridgway,A.A.G. “Mammalian Expression Vectors”第24.2章,第470-472页, Vectors,Rodriguez和Denhardt主编 (Butterworths,Boston,MA1988)。将转化的细胞在适合于产生轻链和重链的条件下生长,并对于重链和/或轻链蛋白质合成进行测定。示例性测定技术包括酶联免疫吸附测定 (ELISA)、放射免疫测定 (RIA) 或者荧光-激活的细胞分选分析 (FACS)、免疫组织化学等。

[0277] 如本文所使用的,术语“转化”应以广泛含义使用以表示DNA向受体宿主细胞的引入,这改变了受体细胞的基因型并因此导致受体细胞改变。

[0278] 沿着相同思路,“宿主细胞”表示已用使用重组DNA技术构建并且编码至少一种异源基因的载体转化的细胞。除非明确指明,否则在用于从重组宿主分离多肽的方法的描述中,术语“细胞”和“细胞培养物”是可互换使用的以表示干扰素相关抗原结合蛋白的来源。换言之,从“细胞”回收多肽可以表示从旋转沉淀的完整细胞或者从含有培养基和混悬细胞两者的细胞培养物回收。

[0279] 在一个实施方式中,用于干扰素相关抗原结合蛋白的表达的宿主细胞系是真核或原核来源的。如本文所使用的,术语“表达”可以包括多于一种多肽链(如干扰素相关抗原结合蛋白的抗体部分的重链和轻链)的转录和翻译,它们结合以形成最终的干扰素相关抗原结合蛋白。在一个实施方式中,用于干扰素相关抗原结合蛋白的表达的宿主细胞系是细菌来源的。在一个实施方式中,用于干扰素相关抗原结合蛋白的表达的宿主细胞系是哺乳动物来源的;本领域技术人员可以确定最适合于在其中表达所期望的基因产物的具体的宿主细胞系。示例性宿主细胞系包括但不限于来自Horizon的CHO K1 GS敲除 (knockout) 细胞系、DG44和DUXB11 (中国仓鼠卵巢细胞系、DHFR减)、HELA (人宫颈癌)、CVI (猴肾细胞系)、COS (具有SV40 T抗原的CVI的衍生物)、R1610 (中国仓鼠成纤维细胞)、BALBC/3T3 (小鼠成纤维细胞)、HAK (仓鼠肾细胞系)、SP2/0 (小鼠骨髓瘤)、BFA-1c1BPT (牛内皮细胞)、RAJI (人淋巴细胞)、HEK 293 (人肾)。在优选的实施方式中,可以使用HEK FS S11/254细胞。在另一个优选的实施方式中,可以使用来自Horizon的CHO K1 GS。在一个实施方式中,细胞系提供了由此表达的抗体的改变的糖基化,例如,岩藻糖基化(例如,PER.C6® (CruCell) 或者FUT8-敲除 (knock-out) CHO细胞系 (POTELLIGENT™细胞) (Biowa,Princeton,NJ))。在一个实施方式中,可以使用NS0细胞。宿主细胞系通常得自商业服务、美国组织培养物收藏中心或者发表的文献。

[0280] 在一个实施方式中,用于干扰素相关抗原结合蛋白的表达的宿主是非人转基因动物或转基因植物。

[0281] 还可以通过产生对于所关心的序列转基因的非人动物(例如,哺乳动物)或植物并

由此产生处于可回收形式的干扰素相关抗原结合蛋白来转基因产生本发明的干扰素相关抗原结合蛋白。结合哺乳动物中的转基因生产,可以在山羊、牛或其它哺乳动物的乳汁中生产和回收干扰素相关抗原结合蛋白。参见,例如,美国专利号5,827,690、5,756,687、5,750,172和5,741,957。示例性植物宿主为烟草、拟南芥、浮萍、玉米、小麦、马铃薯等。对于在植物中表达抗体的方法,包括启动子和载体的描述以及植物转化在本领域中是已知的。参见,例如,美国专利6,517,529,其作为参考并入本文。在一些实施方式中,通过使用标准转基因技术将编码本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的一种或多种核酸分子引入动物或植物来产生非人转基因动物或植物。参见Hogan和美国专利6,417,429。用于制备转基因动物的转基因细胞可以是胚胎干细胞或体细胞。转基因非人生物可以是嵌合、非嵌合杂合子和非嵌合纯合子。参见,例如,Hogan等人,Manipulating the Mouse Embryo:A Laboratory Manual第2版,冷泉港出版社(Cold Spring Harbor Press)(1999);Jackson等人,Mouse Genetics and Transgenics:A Practical Approach,牛津大学出版社(2000);和Pinkert,Transgenic Animal Technology:A Laboratory Handbook,学术出版社(1999)。在一些实施方式中,转基因非人动物通过编码所关心的序列的靶向构建体具有靶向断裂和替换。可以在任何转基因动物中制备干扰素相关抗原结合蛋白。在优选的实施方式中,非人动物为小鼠、大鼠、绵羊、猪、山羊、牛或马。非人转基因动物在血液、乳汁、尿液、唾液、泪液、粘液及其它体液中表达所述干扰素相关抗原结合蛋白。

[0282] 体外生产允许放大以提供大量所期望的干扰素相关抗原结合蛋白。在组织培养条件下用于哺乳动物细胞培养的技术在本领域中是已知的并且包括均匀悬浮培养,例如,在气升式反应器中或者在连续搅拌反应器中,或者固定化或包埋细胞培养,例如,在中空纤维、微胶囊中、琼脂糖微珠或陶瓷柱上。如有必要和/或如果期望,可以通过常规色谱方法,例如,凝胶过滤、离子交换色谱、在DEAE-纤维素上的色谱法和/或(免疫)亲和色谱法纯化干扰素相关抗原结合蛋白的溶液。

[0283] 还可以在非哺乳动物细胞,如细菌或酵母或植物细胞中表达编码干扰素相关抗原结合蛋白的一个或多个基因。在这方面,将理解还可以转化多种单细胞非哺乳动物微生物,如细菌;即能够在培养物或发酵中生长的那些。对转化敏感的细菌包括肠杆菌科的成员,如大肠杆菌(*Escherichia coli*)或者沙门氏菌(*Salmonella*)的株;芽孢杆菌科(Bacillaceae),如枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*);肺炎球菌(*Pneumococcus*);链球菌(*Streptococcus*)和流感嗜血菌(*Haemophilus influenzae*)。还将理解当在细菌中表达时,根据本发明的干扰素相关抗原结合蛋白或其组分(即激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段和IFN或IFN的功能性片段)可以成为包涵体的一部分。然后,可能需要分离,任选地还需要重折叠和纯化所期望的干扰素相关抗原结合蛋白。

[0284] 除原核生物之外,还可以使用真核微生物。酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)或常见的面包酵母是真核微生物中最常用的,尽管一些其它株通常是可用的。对于酵母菌(*Saccharomyces*)中的表达,例如,质粒YRp7(Stinchcomb等人,Nature,282:39(1979);Kingsman等人,Gene,7:141(1979);Tschemper等人,Gene,10:157(1980))是常用的。该质粒已含有TRP1基因,其为缺少在色氨酸中生长的能力的酵母突变株提供了选择标志物,例如,ATCC No.44076或者PEP4-1(Jones,Genetics,85:12(1977))。然后,作为酵母宿主细胞基因组的特征的trp1病变的存在通过在不存在色氨酸的情况下的生长提供了检测

转化的有效环境。

[0285] 治疗性载体

[0286] 可以将编码干扰素相关抗原结合蛋白的核酸序列插入载体并用作治疗性载体,例如,表达本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的载体。适合的功能性表达构建体和治疗性表达载体的构建是本领域的技术人员已知的。因此,在某些实施方式中,可以通过使用编码干扰素相关抗原结合蛋白的RNA或DNA序列、载体或载体体系的基因递送,向受试者施用干扰素相关抗原结合蛋白。

[0287] 可以通过例如静脉内注射、局部施用(参见美国专利号5,328,470)或者通过立体定向注射(参见,例如,Chen等人,PNAS 91:3054-3057(1994))将治疗性载体递送至受试者。治疗性载体的药物制剂可以包括处于可用的稀释剂中的载体。

[0288] 可以将一种或多种干扰素相关抗原结合蛋白编码核酸引入基因构建体以用作做法规程的一部分以递送编码干扰素相关抗原结合蛋白的核酸。提供了用于干扰素相关抗原结合蛋白的体内转染和表达的载体。

[0289] 如本领域技术人员已知的,可以在任何生物学有效的载体,例如,能够将组成核酸序列体内有效递送至细胞的任何制剂或组合中施用这些组分的表达构建体。方法包括但不限于主题核酸序列在病毒载体中的插入,所述病毒载体包括但不限于重组反转录病毒、腺病毒、腺病毒相关病毒和单纯疱疹病毒-1、重组细菌或真核质粒等。

[0290] 反转录病毒载体和腺相关病毒载体可以用作外源核酸序列,具体地向人中体内转移的重组递送系统。这些载体提供了基因向细胞的有效递送,并且所转移的核酸可以稳定整合到宿主的染色体DNA中。

[0291] 仅产生复制-缺陷型反转录病毒的特化细胞系(称为“包装细胞”)的开发提高了反转录病毒用于基因疗法的应用,并且缺陷型反转录病毒的特征在于出于基因疗法目的在基因转移中的使用(有关综述,参见,例如,Miller,Blood 76:271-78(1990))。可以将复制-缺陷型反转录病毒包装到病毒颗粒中,其可以通过标准技术,通过使用辅助病毒感染靶细胞。用于产生重组反转录病毒以及使用这些病毒体外或体内感染细胞的规程可见于Current Protocols in Molecular Biology,Ausubel等人(主编)Greene Publishing Associates,(1989),第9.10-9.14节,及其它标准实验室手册。适合的反转录病毒的非限制性实例包括pLJ、pZIP、pWE和pEM,这是本领域那些技术人员已知的。适合的包装病毒系的实例包括*Crip、*Cre、*2和*Am。(参见,例如,Eglitis等人,Science 230:1395-1398(1985);Danos and Mulligan,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:6460-6464(1988);Wilson等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 85:3014-3018(1988);Armentano等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:6141-6145(1990);Huber等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA88:8039-8043(1991);Ferry等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:8377-8381(1991);Chowdhury等人,Science 254:1802-1805(1991);van Beusechem等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89:7640-7644(1992);Kay等人,Human Gene Therapy 3:641-647(1992);Dai等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA89:10892-10895(1992);Hwu等人,J.Immunol.150:4104-4115(1993);美国专利号4,868,116;美国专利号4,980,286;PCT申请W0 89/07136;PCT申请W0 89/02468;PCT申请W0 89/05345;和PCT申请W0 92/07573)。

[0292] 在另一个实施方式中,提供了腺病毒来源的递送载体。可以操纵腺病毒基因组,从

而它编码和表达所关心的基因产物,但是就其在正常溶胞病毒生命周期中的复制能力而言失活。参见,例如,Berkner等人,BioTechniques 6:616(1988);Rosenfeld等人,Science 252:431-434(1991);和Rosenfeld等人,Cell 68:143-155(1992)。来源于腺病毒株Ad 5型d1324或者其它腺病毒株(例如,Ad2、Ad3、Ad7等)的适合的腺病毒载体是本领域那些技术人员已知的。在某些情况下,重组腺病毒可以是有利的,其中它们不能够感染非分裂细胞并且可以用于感染多种细胞类型,包括上皮细胞(Rosenfeld等人,(1992),如上)。此外,病毒颗粒是相对稳定的并且能够进行纯化和浓缩,并且如上所述,可以改变以影响感染性谱。另外,所引入的腺病毒DNA(和其中所含的外源DNA)不能整合到宿主细胞基因组中,而仍是游离基因,借此避免可以由于其中所引入的DNA整合到宿主基因组(例如,反转录病毒DNA)的原位插入诱变所造成的潜在问题。此外,相对于其它递送载体,用于外源DNA的腺病毒基因组的携带容量较大(多至8千碱基)(Berkner等人,(1998),如上;Haj-Ahmand和Graham, J.Virol.57:267(1986))。

[0293] 用于编码干扰素相关抗原结合蛋白的核酸序列的递送的另一种病毒载体体系是腺病毒相关病毒(AAV)。AAV是天然存在的缺陷病毒,其需要另一种病毒,如腺病毒或疱疹病毒作为有效复制和生产性生命周期的辅助病毒。(有关综述,参见Muzyczka等人, Curr.Topics in Micro.and Immunol.158:97-129(1992))。它还是可以将其DNA整合到非分裂细胞中的少数病毒之一,并且显示出高稳定整合频率(参见,例如Flotte等人, Am.J.Respir.Cell.Mol.Biol.7:349-356(1992);Samulski等人, J.Virol.63:3822-3828(1989);和McLaughlin等人, J.Virol.62:1963-1973(1989))。可以包装含有AAV少至300个碱基对的载体并且它可以整合。外源DNA的空间受限于约4.5kb。AAV载体,如Tratschin等人, Mol.Cell.Biol.5:3251-3260(1985)中所述的载体可以用于将DNA引入细胞。已使用AAV载体将多种核酸引入不同细胞类型(参见,例如,Hermonat等人, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6466-6470(1984);Tratschin等人, Mol.Cell.Biol.4:2072-2081(1985);Wondisford等人, Mol.Endocrinol.2:32-39(1988);Tratschin等人, J.Virol.51:611-619(1984);和Flotte等人, J.Biol.Chem.268:3781-3790(1993))。

[0294] 除病毒转移法之外,非病毒方法也可以用于引起编码干扰素相关抗原结合蛋白的核酸序列在受试者组织中的表达。大部分基因转移的非病毒方法依赖于哺乳动物细胞用于吸收和胞内转运大分子的正常机制。在一些实施方式中,非病毒递送系统依赖于靶细胞吸收主题基因的内吞途径。这种类型的示例性递送系统包括脂质体来源的系统、聚赖氨酸缀合物和人工病毒包膜。其它实施方式包括质粒注入系统,如Meuli等人, J.Invest.Dermatol.116(1):131-135(2001);Cohen等人, Gene Ther 7(22):1896-905(2000);或Tam等人, Gene Ther.7(21):1867-74(2000)中所描述的。

[0295] 在临床环境中,可以通过任何一些方法将递送系统引入受试者,每种方法在本领域中均是常见的。例如,可以全身,例如,通过静脉内注射引入递送系统的药物制剂。蛋白在靶细胞中的特异性转导主要因递送媒介物所提供的转染特异性、由于控制受体基因表达的转录调控序列所造成的细胞类型或组织类型表达或它们的组合而发生。在其它实施方式中,由于向动物中的引入处于相当小的范围,因此重组基因的初始递送更受限。例如,可以通过导管(参见,美国专利号5,328,470)或者通过立体定向注射(例如,Chen等人, PNAS 91:3054-3057(1994))引入递送媒介物。

[0296] 治疗构建体的药物制备可以基本由处于可用的稀释剂中的递送系统组成或者可以包含其中包埋递送媒介物的缓释基质。作为另外一种选择,当可以从重组细胞完整产生整个递送系统,例如,反转录病毒载体时,药物制剂可以包含一个或多个细胞,其产生递送系统。

[0297] 治疗方法

[0298] 在一个方面,如本文所公开的,本发明提供了治疗对其有需要的患者(例如,感染HBV的患者)的方法,其包括施用有效量的干扰素相关抗原结合蛋白或者编码干扰素相关抗原结合蛋白的核酸序列(例如,mRNA)。如本文所公开的,本发明还提供了干扰素相关抗原结合蛋白或者编码干扰素相关抗原结合蛋白的核酸序列(例如,mRNA)在用于治疗HBV的药剂的制备中的使用。在某些实施方式中,本发明提供了用于治疗需要这种治疗的哺乳动物受试者中的病症和/或症状,例如,HBV相关病症和/或HBV相关症状的试剂盒和方法。在某些示例性实施方式中,受试者是人。

[0299] 本发明的干扰素相关抗原结合蛋白或者编码它们的核酸序列在一些不同应用中是有用的。例如,在一个实施方式中,主题干扰素相关抗原结合蛋白或编码它们的核酸序列在减少HBV-感染细胞的HBeAg释放中是有用的。在一些实施方式中,本发明的干扰素相关抗原结合蛋白将原代肝细胞的体外HBeAg释放在1ng/mL时减少了至少10%,在1ng/mL时减少了至少20%,在1ng/mL时减少了至少30%,在1ng/mL时减少了至少40%,在1ng/mL时减少了至少50%,在1ng/mL时减少了至少60%,在1ng/mL时减少了至少70%,在1ng/mL时减少了至少80%或者在1ng/mL时减少了至少85%。在一些实施方式中,本发明的干扰素相关抗原结合蛋白将原代肝细胞的体外HBeAg释放在1ng/mL时减少了至少12%。在一些实施方式中,本发明的干扰素相关抗原结合蛋白将原代肝细胞的体外HBeAg释放在1ng/mL时减少了多至90%。在相关实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白以小于30ng/mL的 EC_{50} ,优选地以小于10ng/mL的 EC_{50} ,更优选地以小于1ng/mL的 EC_{50} 减少HBeAg释放。

[0300] 在另一个实施方式中,主题干扰素相关抗原结合蛋白或者编码它们的核酸序列对于减少HBV-感染细胞中cccDNA的pgRNA转录是有用的。

[0301] 在另一个实施方式中,如本文(下文)所描述的,主题干扰素相关抗原结合蛋白或者编码它们的核酸序列对于减少与HBV感染有关的一种或多种症状和/或并发症是有用的。

[0302] 在某些实施方式中,主题干扰素相关抗原结合蛋白或者编码它们的核酸序列对减少与慢性HBV感染有关的一种或多种病症、症状和/或并发症是有用的,例如,肝脏的慢性炎症(慢性肝炎),其在几年内导致肝硬化;肝细胞癌(HCC);膜性肾小球肾炎(MGN)的出现;死亡风险;急性坏死性脉管炎(多发性结节性动脉炎)、膜性肾小球肾炎和儿童丘疹肢皮炎(奇柯二氏综合征);HBV相关肾病(例如,膜性肾小球肾炎);免疫-介导的血液学病症(例如,特发性混合性冷球蛋白血症、再生障碍性贫血)等。

[0303] 在某些实施方式中,主题干扰素相关抗原结合蛋白或者编码它们的核酸序列对于减少与急性HBV感染有关的一种或多种症状和/或并发症是有用的,例如,急性病毒性肝炎(其开始是一般的身体不适、食欲不振、恶心、呕吐、身体疼痛、微热和小便黄赤,然后发展出现黄疸、暴发性肝衰竭和/或血清-疾病样综合征);食欲不振;关节和肌肉疼痛;微热;胃疼;恶心;呕吐;黄疸;胃胀等。

[0304] 因此,本发明还涉及通过向这些人或动物施用有效、无毒的量的干扰素相关抗原

结合蛋白或者编码它的核酸序列,治疗人或其它动物中与HBV感染有关的一种或多种病症、症状和/或并发症的方法。本领域技术人员将能够通过常规实验来确定出于治疗HBV感染的目的干扰素相关抗原结合蛋白或编码它的核酸序列的有效、无毒的量。

[0305] 例如,可以根据以下因素改变本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的“治疗活性的量”,如疾病阶段(例如,急性与慢性)、年龄、性别、医学并发症(例如,HIV共感染、免疫抑制病况或疾病)和受试者体重以及干扰素相关抗原结合蛋白在受试者中引起所期望的反映的能力。可以调节剂量方案以提供最优的治疗反应。例如,可以每天施用几个划分剂量,或者可以如治疗情况的紧急性所指示的,按比例降低剂量。

[0306] 通常,本发明所提供的组合物可以用于预防性治疗非感染细胞或者治疗性治疗任何包含允许通过干扰素相关抗原结合蛋白靶向HBV-感染细胞的抗原标志物的HBV-感染细胞。

[0307] 药物组合物及其施用

[0308] 在某些实施方式中,在药物组合物中包含了本发明的干扰素相关抗原结合蛋白或编码它们的核酸序列(包括载体或载体体系)。制备和向受试者施用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白或编码它们的核酸序列的方法是本领域技术人员熟知的或者使用本说明书和本领域中的知识作为指导可以容易地确定的。本发明的干扰素相关抗原结合蛋白或者编码它们的核酸序列的施用途径可以是口服、肠胃外、通过吸入或局部施用。如本文所使用的,术语“肠胃外”包括静脉内、动脉内、腹膜内、肌内、皮下、直肠或阴道施用。尽管将所有这些施用形式明确考虑为在本发明的范围内,但是用于施用的形式将是注射溶液,具体地用于静脉内或动脉内注射或滴注的溶液。通常,适合于注射的药物组合物可以包含缓冲剂(例如,乙酸盐、磷酸盐或柠檬酸盐缓冲液)、表面活性剂(例如,聚山梨醇酯),任选地稳定剂(例如,人白蛋白)等。在一些实施方式中,缓冲剂是乙酸盐。在另一个实施方式中,缓冲剂为甲酸盐。在另一个实施方式中,缓冲剂为柠檬酸盐。在相关实施方式中,表面活性剂可以选自包括普卢兰尼克(pluronic)、PEG、脱水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯、triton、氨丁三醇、卵磷脂、胆固醇和泰洛沙泊(tyloxapal)的列表。在优选的实施方式中,表面活性剂为聚山梨醇酯。在更优选的实施方式中,表面活性剂为聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯80或者聚山梨醇酯100,优选地聚山梨醇酯20或者聚山梨醇酯80。

[0309] 在一些实施方式中,可以将干扰素相关抗原结合蛋白或者编码它们的核酸序列直接递送至不利细胞群体(例如,肝脏)位点,借此提高患病组织对治疗剂的暴露。

[0310] 用于肠胃外施用的制剂包括无菌水或非水溶液、混悬液和乳液。非水溶剂的实例为丙二醇、聚乙二醇、植物油,如橄榄油和可注射有机酯,如油酸乙酯。水性载体包括水、醇/水溶液、乳液或混悬液,包括盐水和缓冲媒介物。在本发明的组合物和方法中,药学上可接受的载体包括但不限于0.01-0.1M,例如,0.05M磷酸盐缓冲液,或者0.8%盐水。其它常见的肠胃外媒介物包括磷酸钠溶液、林格氏葡萄糖、葡萄糖和氯化钠、乳酸盐林格氏液或者固定油类。静脉内媒介物包括流体和营养补充剂、电解质补充剂,如基于林格氏葡萄糖的那些等。还可以存在防腐剂及其它添加剂,诸如,例如,抗微生物剂、抗氧化剂、螯合剂和惰性气体等。更具体地,适合于注射使用的药物组合物包括无菌水溶液(当水溶性时)或分散系和用于无菌可注射溶液或分散系的即时制备的无菌粉末。在这些情况下,所述组合物必须是无菌的并且在存在易于可注射性的程度上应是流体。它在生产和储存条件下应是稳定的,

并且通常将以抵抗微生物,如细菌和真菌的污染作用而保存。载体可以是含有例如水、乙醇、多元醇(例如,甘油、丙二醇和液体聚乙二醇等)及其适合的混合物的溶剂或分散媒介。可以例如通过使用涂层,如卵磷脂,就分散系来说通过维持所需的粒径和通过使用表面活性剂来维持适当的流动性。

[0311] 可以通过多种抗细菌和抗真菌剂,例如,对羟苯甲酸、氯代丁醇、苯酚、抗坏血酸、硫柳汞等实现对微生物作用的防止。在多数情况下,在所述组合物中将包括等张剂,例如,糖、多元醇,如甘露糖醇、山梨糖醇或氯化钠。可以通过在所述组合物中包含延缓吸收的试剂,例如,单硬脂酸铝和明胶来造成可注射组合物的延长吸收。

[0312] 在任何情况下,可以根据需要通过在具有本文所列举的一种成分或成分组合的适合溶剂中以所需的量单独或与其它活性剂结合引入活性化合物,如本发明的干扰素相关抗原结合蛋白或编码所述干扰素相关抗原结合蛋白的核酸序列,然后过滤灭菌来制备无菌可注射溶液。通常,通过在无菌媒介物中掺入活性化合物来制备分散系,所述媒介物包含基本的分散媒介和来自以上列举的那些的所要求的其它成分。在用于制备无菌可注射溶液的无菌粉末的情况下,示例性制备方法包括真空干燥和冷冻干燥,这些干燥方法从其先前的无菌-过滤溶液中获得活性成分加任何其它所期望的成分的粉末。根据本领域中已知的方法,处理用于注射的制剂,将其填充到容器,如安瓿、袋、瓶、注射器或小瓶中,并在无菌条件下密封。此外,可以将制剂包装并以试剂盒的形式出售。这些制品通常将具有指示相关组合物对于治疗患有HBV感染的受试者有用的标签或包装说明书。

[0313] 基于多种不同因素,包括施用方式、靶标位点、患者生理状态、患者是人还是动物、所施用的其它药物治疗和治疗是预防性的还是治疗性的,改变本发明的组合物用于治疗上述HBV感染-相关病况的有效剂量。通常,患者是人,但是还可以治疗非人哺乳动物,包括转基因哺乳动物,具体地非人灵长类动物。可以使用本领域技术人员已知的常规方法滴定治疗剂量以优化安全性和效力。

[0314] 对于使用干扰素相关抗原结合蛋白的治疗,剂量可以在例如约0.0001至约100mg/kg,并且更通常地约0.01至约5mg/kg(例如,约0.02mg/kg、约0.25mg/kg、约0.5mg/kg、约0.75mg/kg、约1mg/kg、约2mg/kg等)宿主体重的范围内。例如,剂量可以是约1mg/kg体重或者约10mg/kg体重或者在约1至约10mg/kg的范围内,例如,至少约1mg/kg。上述范围中的剂量中间值也旨在处于本发明的范围内。可以每天、每隔一天、每周或根据通过经验分析确定的任何其它时间表向受试者施用这些剂量。示例性治疗导致在例如至少6个月的持续期内以多个剂量进行施用。其它示例性治疗方案导致大约每两周施用一次或者大约每个月施用一次或者每3至6个月施用一次。示例性剂量时间表包括连续每天约1至约10mg/kg或约15mg/kg,每隔一天约30mg/kg或者每周约60mg/kg。

[0315] 可以在多种情况下施用干扰素相关抗原结合蛋白或者表达任何这些的核酸序列。单次剂量之间的间隔可以是每周、每个月或每年。如通过测量患者中干扰素相关抗原结合蛋白或其组分的血液水平所指示的,间隔还可以是不定期的。作为另外一种选择,可以作为缓释制剂施用干扰素相关抗原结合蛋白或者表达任何这些的核酸序列,在此情况下需要不太频繁的施用。基于干扰素相关抗原结合蛋白在患者中的半衰期来改变剂量和频率。

[0316] 如本文所提及的,术语“半衰期”或“ $t_{1/2}$ ”表示化合物,如本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的稳定性和/或排泄速率。实际上,通常测量血清中化合物的半衰期并将其表示为

施用后血清浓度为施用时血清浓度的50%时的时间。本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的特征在于在小鼠中的长血清半衰期。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的半衰期为至少50h、至少60h、至少70h、至少80h、至少90h或至少100h。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的半衰期为至少100h。在优选的实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白在小鼠中的半衰期在116至158h的范围内。

[0317] 蛋白的半衰期与其清除有关。如本文所使用的,术语“清除”或“清除率”是指每单位时间清除所述蛋白的血浆容积。本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的清除较低。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的清除低于10mL/h/kg、低于5mL/h/kg、低于2.5mL/h/kg、低于1mL/h/kg或低于0.5mL/h/kg。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的清除低于5mL/h/kg。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的清除低于1mL/h/kg。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白在小鼠中的清除在0.28至0.49mL/h/kg的范围内。

[0318] 如本文所使用的,术语“分布容积”、“ V_D ”、“ V_{SS} ”或“表观分布容积”是指以在血浆中所观察到的相同浓度含有所施用的化合物,如本发明的干扰素相关抗原结合蛋白的总量所必需的理论容积,并且表示在口服或肠胃外剂量施用后所述化合物在血浆和身体其它部分之间的分布。在某些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的分布容积 V_{SS} 低于500mL/kg、低于400mL/kg、低于300mL/kg、低于200mL/kg或低于100mL/kg。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的分布容积 V_{SS} 低于100mL/kg。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白在小鼠中的分布容积 V_{SS} 在50至98mL/kg的范围内。

[0319] 另一个相关药物动力学参数是全身暴露。如本文所使用的,术语“全身暴露”、“AUC”或者“曲线下面积”表示浓度-时间曲线的积分。全身暴露可以由母体化合物和/或代谢产物的血浆(血清或血液)浓度或AUC表示。本发明的干扰素相关抗原结合蛋白以大于它们的亲代抗体的全身暴露(AUC(0-inf))在血液中循环。在一些实施方式中,亲代抗体为CP870,893。在其它实施方式中,亲代抗体为3G5。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白的全身暴露为至少600 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$,至少700 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$,至少800 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$,至少900 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 或至少1000 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$,优选地至少1000 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 。在一些实施方式中,干扰素相关抗原结合蛋白在小鼠中的全身暴露在1033 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 至1793 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 的范围内。

[0320] 如先前所讨论的,可以以药物有效量施用本发明的干扰素相关抗原结合蛋白以用于哺乳动物病症的体内治疗。在这方面,将理解如公开的,配制干扰素相关抗原结合蛋白以帮助活性剂的施用和促进活性剂的稳定性。

[0321] 根据本发明的药物组合物可以包含药学上可接受的、无毒、无菌载体,如生理盐水、无毒缓冲剂、防腐剂等。干扰素相关抗原结合蛋白的药物有效量通常是足以介导以下中的一种或多种的量:从HBV-感染细胞的HBeAg释放的减少;HBV-感染细胞中pgRNA转录的减少;和IFN信号转导通路在感染细胞中的刺激。当然,可以在单一或多个剂量中施用本发明的药物组合物以提供干扰素相关抗原结合蛋白的药物有效量。

[0322] 与本发明的范围一致,可以根据上述治疗方法以足以产生治疗效果的量将干扰素相关抗原结合蛋白或者表达它们中任一种的核酸序列施用于人或其它动物。可以根据已知技术,通过将干扰素相关抗原结合蛋白或表达它们中的任一种的核酸序列与常规药学上可接受的载体或稀释剂混合所制备的常规剂量形式,将干扰素相关抗原结合蛋白或表达它们中的任一种的核酸序列施用于这些人或其它动物。本领域技术人员将认识到药学上可接

受的载体或稀释剂的形式和特征由它将混合的活性成分的量、施用途径及其它熟知的变量决定。本领域技术人员将进一步理解包含在本发明中所描述的干扰素相关抗原结合蛋白或表达它们中的任一种的核酸序列的一种或多种物质的混合物可以经证明是有效的。

[0323] 应理解在本发明中所描述的方法不局限于本文所公开的具体方法和实验条件,因为这些方法和条件可以改变。还应理解本文所使用的术语仅出于描述具体的实施方式的目的,并且其不意欲进行限制。

[0324] 此外,除非另外说明,否则本文所描述的实验使用本领域技术范围内的常规分子和细胞生物学和免疫学技术。这些技术对于技术工人是熟知的,并且在文献中充分解释。参见,例如,Ausubel等人主编,Current Protocols in Molecular Biology,John Wiley& Sons,Inc.,NY,N.Y. (1987-2008),包括所有增刊、MR Green和J.Sambrook和Harlow等人的分子克隆:实验室手册(Molecular Cloning:A Laboratory Manual)(第4版)、抗体:实验室手册(Antibodies:A Laboratory Manual),第14章,冷泉港实验室(Cold Spring Harbor Laboratory),冷泉港(Cold Spring Harbor)(2013,第2版)。

[0325] 除非另外定义,否则本文所使用的科学和技术术语具有本领域那些技术人员通常所理解的含义。如果存在任何潜在歧义,则本文所提供的定义优先于任何词典或外部定义。除非上下文另外要求,否则单数术语应包括复数并且复数术语应包括单数。除非另有说明,否则“或”的使用表示“和/或”。术语“包括(including)”以及其它形式诸如“包括(includes)”和“包括(included)”的使用不是限制性的。除非另有说明,否则术语“包含”的使用应包括术语“由…组成”。

[0326] 一般地,本文所描述的结合细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学以及蛋白和核酸化学和杂交使用的术语是本领域中熟知且常用的。除非另外说明,否则一般地,根据在本领域中熟知的和如在整个本说明书中所引用和讨论的多个一般且更具体的参考文献中所述的常规方法实施本文所提供的方法和技术。如本领域中通常所完成的和如本文所描述的,根据生产商的说明实施酶促反应和纯化技术。本文所描述的结合分析化学、合成有机化学以及药学和药物化学使用的术语以及这些领域的实验方法和技术是本领域中熟知且常用的那些。将标准技术用于化学合成、化学分析、药物制备、制剂和递送以及患者的治疗。

[0327] 本文所使用的小节标题仅是出于组织的目的,并且不应将其视为对所述主题的限制。将本文所提及或引用的论文、专利和专利申请以及所有其它文档和可电子获得的信息的内容以每个单个出版物具体并单独指明作为参考并入的相同程度以其全部内容作为参考并入本文。申请人保留了将来自任何这些论文、专利、专利申请或其它物理和电子文档的任何和所有材料和信息物理引入本发明申请的权利。

[0328] 尽管已参考其具体的实施方式描述了本发明,但是本领域技术人员应理解使用本发明公开作为指导,在不背离本发明的真正精神和范围的情况下可以做出多种改变并且可以替代等价形式。通过目前详细描述某些实施方式,通过参考下列实施例将更清楚地理解相同内容,仅出于说明的目的包括所述实施例并且其不意欲限制。

[0329] 实施例

[0330] 实施例I

[0331] 基于激动性抗-CD40抗体CP870,893的干扰素融合的抗体(IFA)的产生和对报告细

胞的鉴定

[0332] I.a-IFA设计

[0333] 表7和表9中列出了设计使用CP870,893激动性抗-CD40抗体作为主链抗体,具有IFN位置和接头性质的示例性IFA的序列组合。如表7所示,IFN通过接头在轻链(LC)或重链(HC)的N-或C-末端部分融合。通过优化的哺乳动物表达密码子合成了编码HC、LC或融合的核酸并将其克隆至真核表达载体,如pcDNA3.1(Invitrogen)。图2A显示了受pCMV启动子控制的编码Seq ID NO 32的pcDNA3.1质粒的示例性图谱。

[0334] I.b-IFA产生

[0335] 用以4/6的HC/LC比编码HC和LC两者的质粒瞬时共转染Freestyle293-F细胞(Invitrogen)。转染后6天,收集上清液、离心并通过0.22 μ m过滤器过滤。在两个纯化步骤中,在AktaExpress色谱系统(GE Healthcare)上,使用蛋白A MabSelect Sure 5mL 1.6/2.5cm柱(GE Healthcare),以5mL/min的流速实施纯化方法。在D-PBS1X pH 7.5缓冲液中进行样品结合,并用甘氨酸/HCl 0.1M pH 3.0缓冲液洗脱。将洗脱峰保存在环中,然后以10mL/min的流速,在D-PBS1XpH 7.5缓冲液中进样到HiTrap脱盐26/10柱上(GE Healthcare)。在96-孔微板上收集洗脱峰(2mL部分)。根据UV峰谱图进行混合。在0.22 μ m过滤器(Sartorius MiniSart)上过滤后,进行质量控制,包括使用Endosafe[®]nexgen-PTS[™](Charles River)的细菌内毒素,排阻色谱:使用SEC 200Increase 10/300柱(GE Healthcare)以确定纯度和低聚物,以及在还原和非还原条件下在NuPAGE凝胶系统(Invitrogen)上在MES SDS运行缓冲液中的SDS-PAGE。表9中显示了产品得率。对于一些IFA,产品得率极低。在那种情况下,直接使用含有IFA的上清液评价激动性CD40活性和IFN活性而无任何进一步纯化。

[0336] 纯化的IFA的还原性SDS-PAGE分析表明对应于HC和LC的两个主要条带的存在。当将IFN(无论哪个IFN家族成员)融合至HC时,观察到其分子量的改变并且对于与任何IFN融合的LC观察到了相同现象(图2B)。

[0337] I.c-对报告细胞的IFA鉴定

[0338] 将HEK-Blue[™]CD40L细胞(InvivoGen产品目录#:hkb-cd40)或HEK-Blue[™]IFN- α/β 细胞(InvivoGen,产品目录#:hkb-ifn $\alpha\beta$)分别用于监测通过CD40激动剂对NF κ B通路的激活或者通过I型-IFN诱导的IFN通路的激活。

[0339] 通过用人CD40基因和NF κ B-诱导型分泌性胚胎碱性磷酸酶(SEAP)构建体(Invivogen)稳定转染HEK293细胞产生HEK-Blue[™]CD40L细胞以测量CD40激动剂的生物活性。CD40的刺激导致NF κ B诱导,然后导致SEAP产生,使用QUANTI-Blue[™](Invivogen,产品目录#rep-qbs2)在上清液中检测到了SEAP。

[0340] 设计HEK-Blue[™]IFN-细胞以监测通过I型-IFN诱导的JAK/STAT/ISGF3通路的激活。这种通路激活引起了SEAP的产生和释放。SEAP水平是使用QUANTI-Blue[™]在上清液中易于可评价的。

[0341] 将HEK-Blue[™]IFN- α/β 用于监测人IFN α 或IFN β 的活性。

[0342] 将细胞接种到96-孔板(50,000个细胞每孔)中并用每种IFA或对照的指定浓度刺激并在37 $^{\circ}$ C培育24h。然后收集上清液,在将上清液与QuantiBlue[™]培育约30min后定量SEAP水平,并在620nm在EnSight酶标仪或PheraStar(Lab Biotech)上评价光密度(O.D.)。

[0343] HEK-Blue™Dual IFN- γ 细胞 (InvivoGen, 产品目录#:hkb-ifng) 或者 HEK-Blue™IFN- λ (InvivoGen, 产品目录#:hkb-ifn1) 分别可以用于监测II型-和III型-IFN的活性。设计HEK-Blue™IFN- λ 细胞以监测IFN λ 的活性。HEK-Blue™Dual IFN- γ 细胞允许检测生物活性人IFN γ 。

[0344] I.d-IFN α / β 基IFA对报告细胞的功能性活性

[0345] 图3显示了IFA在HEK-Blue™CD40L (图3A-3B) 和HEK-Blue™IFN- α / β 细胞 (图3C-3D) 上的剂量反应的实例,其中如表7所示,将如表7中所指明的IFN β 或其突变形式融合至HC。在表9中总结了IFA的激动性抗-CD40活性并且在图3A和图3B中显示了实例。结果表明所有所测试的IFA具有功能性,其以剂量依赖性方式激活CD40通路和IFN- α / β 通路两者。对于向HC或LC的C-末端的融合,激动性CD40的EC₅₀值在11.1ng/mL至192ng/mL的范围内 (表9)。在图3所示的实验中,亲代抗体的平均EC₅₀值是48ng/mL和57ng/mL。具有融合至HC或LC的N-末端的IFN的IFA也能够激活CD40通路,但是对于这些IFA不可以确定准确的EC₅₀值,因为直接从上清液确定活性与非使用纯化蛋白确定 (图3B)。

[0346] 在表9中总结了多种IFA的IFN活性并且在图3C至3D中显示了实例。对于IFN β 或突变IFN β (如表7所指明的) 向HC或LC的C-末端的融合,基于接头序列,IFN活性是可变的,其EC₅₀值在0.14ng/mL至4.5ng/mL的范围内 (图3C和表9)。图3D显示了具有融合至N末端部分的IFN β 的IFA显示出高IFN活性。用作阴性对照的亲代抗体不显示任何活性,然而重组IFN β 的确显示出强剂量-依赖性反应。总体而言,这些结果表明不考虑位置,如表7中所指明的IFN β 或其突变形式与抗体的融合维持了两种生物学功能,尽管就效力而言具有差异。

[0347] 图4显示了IFA在HEK-Blue™CD40L (图4A和图4C) 和HEK-Blue™IFN- α / β 细胞 (图4B和图4D) 上的剂量反应的实例,其中如表7所示,将IFN α 融合至HC或LC。结果表明所有所测试的IFA具有功能性,其以剂量-依赖性方式激活CD40通路和IFN α / β 通路两者。意外地,对于所有IFN α 基IFA,对CD40通路的效力可重复地高于亲代抗体。IFN α -基IFA的EC₅₀值在11.1ng/mL至22.7ng/mL的范围内,而CP870,893的EC₅₀在30ng/mL至80ng/mL的范围内 (平均EC₅₀值:48ng/mL)。

[0348] 基于接头序列,IFA的IFN活性是可变的,其EC₅₀值在1.6ng/mL至5.1ng/mL的范围内。在相同测定中,PEG化的IFN α 2a (**Pegasys®**) 也以剂量-依赖性方式具有活性,其EC₅₀值为约1ng/mL。

[0349] I.e-无Fc区的IFA的产生和鉴定

[0350] 根据本发明的适合的构建体也可以是无Fc区的干扰素相关抗原结合蛋白。设计了编码融合至TEV-His标签的CP870,893的fab片段的轻链的构建体 (SEQ ID NO 50) 并将其克隆至表达质粒pcDNA3.1。如先前所述,在HEK细胞中共转染该构建体,其中LC通过不同接头融合至不同的IFN,如SEQ ID NO 28、SEQ ID NO 29、SEQ ID NO 34、SEQ ID NO 35、SEQ ID NO 36、SEQ ID NO 37、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42或SEQ ID NO 43。在报告细胞中评价蛋白和/或上清液和/或它们对PHH中HBV感染的影响。本领域技术人员将理解用于疗法的构建体将不再含有TEV-His标签。这些构建体同样地是本发明的实施方式。无Fc部分的干扰素相关抗原结合蛋白将相对于HBV感染具有活性。然后,产生了两种IFA并且在实施例V中描述了它们的功能性鉴定:IFA50: (SEQ ID NO 41) + (SEQ ID NO 50) 和IFA51: (SEQ ID NO 42) + (SEQ ID NO 50)。

[0351] 实施例II

[0352] IFA对HBV感染的原代肝细胞的影响

[0353] II.a- IFA对原代人肝细胞中HBV感染的影响

[0354] 研究了IFA对原代人肝细胞 (PHH) 中HBV感染的影响。将PHH细胞在96-孔板 (70,000个细胞/孔) 中的补充有10%胎牛血清 (FCS) (SH30066.02, Hyclone)、胰岛素 (19278-5ML, Sigma)、氢化可的松 (H2270-100MG, Sigma) 和青霉素/链霉素 (15140, Gibco) 的William's E GlutaMAX培养基 (32551-020, Gibco) 中铺板。4小时后, 漂洗细胞并替换培养基。第二天, 用含有matrigel的培养基 (0.25mg/mL; 356231, Corning) 替换培养基。在以500至1,000vge/细胞 (病毒基因组当量) 的MOI (感染复数) 在补充有5%FCS、4%PEG 8000 (81268, Sigma)、2% DMSO (DMSO-100ML, Sigma) 和1%青霉素/链霉素的InVitroGRO HI培养基 (Z99009, Bioreclamation IVT) 中铺板后, 将细胞感染48小时。感染后16小时, 用PBS清洗细胞三次。感染后4天, 将细胞保持未处理或用依次稀释的IFA处理, 如图所示。处理后3天, 收集培养上清液并在-80°C保持以用于进一步蛋白检测。

[0355] II.b. -HBV e-抗原 (HBeAg) 释放评价

[0356] 如生产商所述, 使用ELISA测量细胞培养上清液中的HBV e-抗原 (HBeAg) 水平, 并且结果以PEI单位 (HBeAg CLIA 96T/K:CL0312-2; Autobio) 或者发光表示。

[0357] II.c. -HBV s-抗原 (HBsAg) 释放评价

[0358] 按照AutoBio HBsAg CLIA试剂盒 (#CL0310-2) 的规程, 实施上清液中HBsAg的定量, 主要步骤为: 首先, 将样品在1X PBS中1/5稀释。然后, 将50μL标准品、对照和稀释样品置于孔中。将50μL“酶缀合物”溶液加入至每个孔中, 然后在37°C培育1小时。随后, 使用洗板器用300μL来自试剂盒的清洗溶液清洗板6次。然后, 将50μL“底物溶液” (试剂A和B中的体积-比-体积混合) 加入每个孔中并避光进行10分钟培育。然后, 在PHERASTAR酶标仪 (BMG Labtech) 上以发光模式读取板。

[0359] II.d. -pgRNA定量

[0360] 将qPCR技术用于比较来自用测试化合物处理的感染细胞的pgRNA的表达水平。使用QuantStudio 12K Flex, 在96-孔板中进行来自感染细胞的pgRNA定量。通过RT获得cDNA, 随后用TaqMan快速病毒测定一步进行qPCR (ThermoFisher cat#4444434)。通过 $\Delta\Delta Ct$ 法处理结果并用管家基因GUSB归一化, 重复两次。使用下列引物和探针: (正向: CCTCACCATACTGCACTCA, 反向: GAGGGAGTTCTTCTTAGG, AGTGTGGATTTCGACTCCTCCAGC作为探针) 扩增pgRNA。使用来自Thermo Fisher (Hs99999908-m1) 的TaqMan测定扩增GUSB基因。

[0361] II.e. -CXCL10释放

[0362] 根据生产商的说明, 使用ELISA试剂盒评价CXCL10释放 (BioLegend439904)。1/50稀释样品, 并在EnSight酶标仪上在450nm评价发光。

[0363] II.f - IFN α /β基IFA对HBV感染的影响

[0364] 测试了几种IFA在用HBV感染PHH后降低HBeAg分泌的能力。在图5中, 使用了具有在LC的C-末端融合的IFNβ或其突变形式的IFA。结果指示所有所测试的IFA强烈减少HBeAg释放。的确, 即使处于所测试的最低浓度 (1ng/mL), 基于IFA, 观察到了70%至90%的HBeAg释放抑制, 从而证明它们具有有效抗-病毒作用。值得注意的是在该实验中无法达到100%抑制, 因为在感染后4天开始处理并且此时已有的HBeAg混合池 (mRNA和蛋白) 已存在于细胞中

并且在此后继续产生。

[0365] 还在HBV-感染的PHH中测试了融合至IFN α 的IFA的影响。图6显示这些IFA对于HBV感染非常有效,其中对于具有在HC的C-末端融合的IFN α 2a的IFA,其EC₅₀值在0.06ng/mL至0.2ng/mL的范围内(IFA25:0.16ng/mL; IFA26:0.1ng/mL; IFA27:0.06ng/mL; 和IFA38:~0.2ng/mL(~2.2pM);图6A和图6C)并且对于具有在LC的C-末端融合的IFN α 2a的IFA,EC₅₀值在0.15ng/mL至0.36ng/mL的范围内(IFA28:0.36ng/mL; IFA29:0.15ng/mL; IFA30:0.31ng/mL; 和IFA39:~0.3ng/mL(~3pM);图6B和图6C)。为了将Pegasys的抗病毒作用与IFA38和IFA39相比较,以pM表示结果并且结果表明Pegasys的EC₅₀为~250pM,相比之下IFA38的为~2.2pM且IFA39的为~3pM,表明IFA比Pegasys更有效。

[0366] II.g-短期处理足以诱导有效的抗-病毒活性

[0367] 为了评价HBV感染的原代肝细胞的短期IFA处理的影响,感染细胞并培育4天,以剂量依赖性方式用IFA25、IFA27、IFA28、IFA30或用Pegasys处理24h,清洗并且然后与无任何处理的新鲜培养基培育。3天后,收集上清液以评价HBeAG(图6E)、HBsAG(图6F)和CXCL10(图6H)释放水平并且将细胞裂解并提取RNA以定量pgRNA(图6G)。结果表明所有所测试的IFA能够以剂量依赖性方式抑制HBeAG和HBsAG释放以及pgRNA表达。单独的Pegasys仅能够抑制HBeAG释放并降低pgRNA水平。在这方面,IFA对病毒参数的活性比Pegasys至少高2log。意外地,尽管所有所测试的IFA显示出对HBsAg释放的剂量依赖性抑制,但是即使在最高浓度,使用Pegasys未观察到降低。CXCL10(IFN通路的生物标志物)分析显示IFA也比Pegasys更有效。

[0368] 实施例III

[0369] 细胞因子释放

[0370] III.a-来自人全血细胞的细胞因子释放评价(CRA)

[0371] 将全血细胞(WBC)离体刺激测定用于研究IFA刺激后细胞因子的释放。从4位健康供体收集WBC,在RPMI1640(72400-021,Gibco)中1/3稀释并分布在无菌反应管中(300 μ l)。将细胞保持未刺激,作为阳性对照用10ng/mL的LPS(脂多糖)K12(tlr1-eklps,Invivogen)或者用1 μ g/mL的IFA刺激并在37 $^{\circ}$ C培育24h。然后收集上清液,并在-20 $^{\circ}$ C冷冻直至分析当天。

[0372] 使用测量肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白介素(IL)-1 β 、IL-2、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12/IL-23p40和IFN γ 的多重MSD测定(K15067L-4)分析人促炎细胞因子。在1300MESO QuickPlex SQ120设备(MSD)上分析MSD板。

[0373] 图7显示了来自未刺激、用LPS或用IFA1处理的人WBC的体外细胞因子释放评价的示例性结果。

[0374] 在表11a和11b中总结了测试IFN β -/突变IFN β -和IFN α -基IFA的其它结果。结果显示对于所有供体,LPS诱导了极高的炎性细胞因子(IL-1 β 、TNF- α 、IL-6、IL-12p40和IFN γ)水平。它还诱导了作为IFN通路的生物标志物的IP10(CXCL10)和中等水平的IL-10。测试了两个IFN β - (表11a)和6个IFN α - (表11b)基IFA。它们全部诱导生物标志物IP10。然而,它们不诱导IL-10、IL-1 β 和IL-2,并且它们仅诱导极低至中等水平的IFN γ 、IL-6和TNF- α ,因此表明对于炎性细胞因子的诱导具有良好的安全性谱。

[0375] 实施例IV

[0376] 药物动力学研究

[0377] IV.a-用于IFA定量的ELISA测定开发

[0378] 对于ELISA定量,在4℃,用100μl,0.5μg/mL在碳酸钠(0.05M,pH9.6,C-3041,Sigma)中的重组人CD40/TNFRSF5 Fc嵌合蛋白(由融合至人IgG1的Fc部分的人CD40的胞外域组成(CD40-Fc;R&D Systems;1493-CDB-050))溶液涂覆96-孔板(96孔板(PLATES 96wells)Maxisorp,THERMO Scientifique;442404)过夜。在通过翻转清空后,将板随后在37℃与PBS-0.05%Tween 20-1%牛奶(SIGMA;70166-500g)培育1小时,然后用PBS-0.05% Tween 20清洗。然后,将样品和对照(100μl的1/2连续稀释)在37℃培育90分钟,随后清洗3次(PBS-0.05%Tween 20)并与第二抗-IgG2-缀合物HRP(1/5000,ab99779,Abcam)抗体或者抗-IFNα缀合物HRP(1/1000,eBIOSCIENCE/Invitrogen;BMS216MST)在PBS-0.05%Tween 20-1%牛奶中培育。在用PBS、0.05%Tween 2清洗3次后,加入TMB(四甲基联苯胺,Tebu Bio;TMBW-1000-01)并将板避光培育20分钟。通过添加1M HCl终止反应。用Ensign酶标仪(Perkin Elmer)在450-650nm读板。使用类似的规程步骤,但是使用来自eBioscience/Invitrogen的人IFNα匹配的抗体对评价Pegasys的定量。使用100μL,1μg/mL人抗-IFNα抗体(eBioscience/Invitrogen;BMS216MST)在碳酸钠(0.05M,pH9.6,C-3041,Sigma)中的溶液进行捕获。对于检测,应用第二抗-IFNα缀合物HRP抗体(1/1000,Affymetrix eBioscience/BMS216MST;15501707)在PBS-0.05%Tween20-1%牛奶中的溶液。

[0379] IV.b-在鼠中的体内生物利用度

[0380] 为了确定PK参数,将CP870,893、IFA25、IFA26、IFA27、IFA28、IFA29和IFA30以0.5mg/kg并且将Pegasys以0.3mg/kg与推注施用于雄性CD1-Swiss小鼠并在不同时间点收集血液样品。在图8A和8B中显示了使用以上所描述的并且使用抗-IFNα-缀合的HRP所显示的ELISA法的循环分子定量的实例,而在图8C中显示了用抗-IgG2-缀合的HRP显示的定量实例;图8D显示了Pegasys定量。在表12A中总结的一组实验中,在7-天实验中研究了CP870,893的PK参数并且在10-天实验中研究了IFA27、IFA29和IFA30的那些PK参数(使用2种不同的ELISA方法进行IFA27定量)。在表12B中所总结的另一组实验中,在21-天实验中研究了CP870,893和IFA25、IFA26、IFA28和Pegasys的PK参数(使用2种不同的ELISA方法进行IFA25定量)。

[0381] 在短分布相后,IFA的药物动力学谱的特征在于116至218h的范围内的长血清半衰期(表12A和表12B)。对于6种所测试的IFA获得了非常类似的PK谱,其即使在单一剂量施用后10天仍具有高循环水平。表12A/B中所总结的药物动力学参数表明这些IFA意外地在血液中以1033μg.h/mL至2552μg.h/mL的范围内的更高的全身暴露(AUC(0-inf))循环,相比之下亲代抗体CP870,893分别为590或797μg.h/mL(多至3.2倍),这也反映了IFA较低的清除值。分布容积V_{ss}较低并且在50至105mL/kg之间排列,稍高于该物种中的血浆血管容积(50mL/kg)。对于所有IFA,将清除排列为低(0.28至0.49mL/h/kg)。有趣地,Pegasys的清除(1.4mL/h/kg)比IFA的清除(例如,对于IFA27,0.2mL/h/kg)高多达7倍,从而证明了IFA更高的全身暴露。

[0382] 实施例V

[0383] V.a-无Fc区的IFA对报告细胞和HBV感染的功能活性

[0384] 为了确定IFA的Fc部分是否是活性所需的,设计并产生了IFNα向与HC的Fab片段结

合的LC的C末端部分的融合。使用(G4S) 2 (IFA50) 或者(G4S) 3 (IFA51) 接头将IFN α 连接至LC部分。

[0385] 对HEK-BlueTMCD40L细胞的评价证明这些IFA仍显示出激动性CD40活性(图9A) 并且激活CD40通路,其EC₅₀值分别为约128ng/ml (IFA 50) 和123ng/mL (IFA51)。

[0386] 对HEK-BlueTMIFN- α / β 细胞的IFN活性的评价显示两种所测试的IFA显示出IFN活性(图9B)。在表9B中报告了EC₅₀值并且IFA50的EC₅₀值为约1.36ng/ml,而IFA51的为1.43ng/mL。

[0387] 如先前所述,对HBV感染测试了两种IFA,并且两种IFA显示出有效的抗-病毒活性,其EC₅₀值分别为约4.1pM (IFA50) 和2.7pM (IFA51)。

[0388] V.b-IFN ϵ 基IFA对报告细胞和HBV感染的功能活性

[0389] 还设计并产生了CP870,893向第三I型干扰素(IFN伊普西龙;IFN ϵ)的融合。对HEK-BlueTMCD40L细胞测试了这些IFA并且可以证实它们维持激动性CD40活性。图10A中显示了一种这种IFA (IFA49) 的结果。对HEK-BlueTMhIFN- α / β 细胞(事实上,其通过任何I型干扰素激活)的评价显示IFA49也能够激活IFN-I-通路(图10B)。表9B报告了EC₅₀值。另外,还对原代肝细胞中的HBV感染测试了IFA49并且显示出与Pegasys类似的活性(图10C)。

[0390] 这些结果证实了具有IFN ϵ 的IFA维持了IFN和激动性CD40活性两者(即是双功能的)并且具有抗病毒活性。

[0391] V.c-IFN ω 基IFA对报告细胞和HBV感染的功能活性

[0392] 还设计并产生了CP870,893向第四I型干扰素(IFN欧米茄;IFN ω)的融合。对HEK-BlueTMCD40L细胞测试了这些IFA并且结果证实它们维持激动性CD40活性。图11A中显示了一种这种IFA (IFA46) 的结果。对HEK-BlueTMhIFN- α / β 细胞(事实上,其通过任何I型干扰素激活)的评价显示IFA46也能够激活IFN-I-通路(图11B)。表9B报告了EC₅₀值。另外,还对原代肝细胞中的HBV感染测试了IFA46并且显示出与Pegasys类似的活性(图11C)。

[0393] 这些结果证实了具有IFN ω 的IFA维持了IFN和激动性CD40活性两者(即是双功能的)并且具有抗病毒活性。

[0394] V.d-IFN γ 基IFA对报告细胞和HBV感染的功能活性

[0395] 还设计并产生了CP870,893向II型干扰素(IFN伽玛;IFN γ)的融合。这些IFA对HEK-BlueTMCD40L细胞的评价证明它们维持激动性CD40活性,而不考虑IFN γ 是否连接至LC (IFA42) 或HC (IFA43) 的C末端部分(图12A)。这些IFA对HEK-BlueTM-IFN γ 细胞的评价(图12B)显示它们也能够激活IFN γ -通路。在IFA42 (EC₅₀:15ng/ml) 和IFA43 (EC₅₀:<0.01ng/ml) 之间IFN γ 活性稍有不同。表9B报告了EC₅₀值。另外,如先前所述,以剂量依赖性方式对原代肝细胞中的HBV感染测试了IFA42和IFA43。结果表明两种IFA以剂量依赖性方式减少HbeAg释放(图12C),其表明具有II型-IFN的IFA对HBV感染具有活性。

[0396] 总体而言,这些结果表明具有IFN γ 的IFA维持了IFN和激动性CD40活性两者(即是双功能的)并且具有抗-病毒活性。

[0397] V.e-IFN λ 基IFA对报告细胞和HBV感染的功能活性

[0398] 还设计并产生了CP870,893向III型干扰素(IFN拉姆达;IFN λ)的融合。对HEK-BlueTMCD40L细胞测试了这些IFA并且结果证明它们也维持激动性CD40活性,而不考虑IFN λ 是否连接至LC (IFA44) 或HC (IFA45) 的C末端部分(图13A)。这些IFA对HEK-BlueTM-IFN λ 细胞

的评价显示它们也能够激活IFN λ -通路(图13B)。表9B报告了EC₅₀值。这些结果也证实具有IFN λ 的IFA维持了IFN和激动性CD40活性两者(即是双功能的)。

[0399] 如先前所述,与Pegasys相比,对于原代肝细胞中的HBV感染,以单一剂量测试了IFA44和IFA45。结果表明两种类型的IFA分别将HbeAg释放降低了65%和78%。在这些条件下,Pegasys将HbeAg释放抑制了81%。这些结果表明具有III型IFN的IFA对于HBV感染具有活性,对于两种所测试的IFA,EC₅₀值<10nM(图13C)。

[0400] 实施例VI

[0401] 基于抗-CD40抗体3G5的干扰素融合的抗体(IFA)的产生和对报告细胞的鉴定

[0402] VI.a-IFA设计

[0403] 表7和表10中列出了设计使用3G5抗-CD40抗体(Celldex)作为主链抗体,具有IFN位置和接头性质的示例性IFA的序列组合。如表7所示,IFN通过接头在轻链(LC)或重链(HC)的C末端部分融合。通过优化的哺乳动物表达密码子合成了编码HC、LC或融合的核酸并将其克隆至真核表达载体,如pcDNA3.1(Invitrogen)。

[0404] VI.b-IFA产生

[0405] 如前所述实施IFA产生并且产品得率如表10所示。对于一些IFA,产品得率极低,主要是对于IFN β 向LC的C末端部分的融合。对于这些IFA,直接使用含有IFA的上清液评价激动性CD40和IFN活性而无任何进一步纯化。纯化的IFA的还原性SDS-PAGE分析表明对应于HC和LC的两个主要条带的存在。当IFN融合至HC时,观察到了其分子量的改变。(图14)。

[0406] VI.c-IFN α / β -基IFA对报告细胞的功能性活性

[0407] 如前所述,在HEK-BlueTMCD40L(图15A-B和图16A)以及HEK-BlueTMIFN- α / β 细胞(图15C-D和图16B)上进行了对报告细胞的3G5 IFA鉴定(参见I.c)。

[0408] VI.c.1. IFN β 基IFA

[0409] 图15-显示了IFA对HEK-BlueTMCD40L和HEK-BlueTMIFN- α / β 细胞的剂量反应的实例,其中将IFN β 融合至3G5的HC或LC(图15)。表10中所总结的结果表明所有所测试的IFN β -基IFA具有功能性并且能够以剂量-依赖性方式激活CD40通路和IFN α / β 通路两者。

[0410] 图15A和图15B中显示了CD40活性的实例。IFN β 向HC的C末端部分的融合证实了高度可变的抗-CD40活性并且在所有情况下,小于EC₅₀值在30ng/mL至190.5ng/mL的范围内的亲代抗体(图15A和表10)。亲代3G5抗体的平均EC₅₀值为9.3ng/mL。

[0411] 对于在LC的C末端部分上的融合,产品得率极低并且在HEK-细胞中过表达之后使用含有IFA的上清液评价活性。这些上清液对HEK-BlueTMCD40L的评价(图15B)证实这些IFA对CD40通路具有活性。对于3G5,当上清液稀释300倍时,仍检测到了激动性抗-CD40活性。相反,含有IFA的上清液需要1/10稀释来观察到活性(图15B)。

[0412] 对HEK-BlueTMIFN- α / β 细胞测试IFA的IFN活性并且在表10中总结了结果。图15C-D中显示了实例。对于IFN β 在HC的C末端部分的融合,基于接头序列,IFN活性是可变的,其EC₅₀值在0.45ng/mL至10,3ng/mL的范围内(图15C)。对于含有具有在LC的C末端部分的IFN β 融合的IFA的上清液,即使将上清液稀释10000-倍后仍检测到了IFN活性(图15D)。

[0413] VI.c.2. IFN α 基IFA

[0414] 图16显示了IFA对HEK-BlueTMCD40L(图16A)和HEK-BlueTMIFN α / β 细胞(图16B)的剂量反应的实例,其中将IFN α 融合至3G5的HC。

[0415] 结果表明所有IFA显示出对CD40通路和IFN α / β 通路两者以剂量-依赖性方式的功能性激活(表10中报告了平均EC₅₀值)。

[0416] 对于所有IFN α -基IFA,对CD40通路的效力类似于亲代抗体,其平均EC₅₀值在11.74ng/mL至14.2ng/mL的范围内(图16A和表10)。亲代3G5抗体的平均EC₅₀值为9.3ng/mL。

[0417] 对HEK-BlueTMIFN- α / β 细胞测试了IFN α -基IFA的IFN活性并且证实具有极高的活性。这些IFA的IFN活性的平均EC₅₀值在0.04ng/mL至0.12ng/mL的范围内(图16B和表10)。

[0418] VI.d-无Fc区的IFA的产生和鉴定

[0419] 根据本发明的适合的构建体也可以是无Fc区的干扰素相关抗原结合蛋白。设计了编码融合至TEV-His标签的3G5的Fab片段的重链的构建体(SEQ ID NO 65)并将其克隆至表达质粒pcDNA3.1。如前所述,将该构建体在HEK细胞中共转染,其中通过不同的接头将LC融合至IFN,如SEQ ID NO 70或者SEQ ID NO 71。在报告细胞中评价蛋白和/或上清液和/或它们对PHH中HBV感染的影响。本领域技术人员将理解用于疗法的构建体将不再含有TEV-His标签。这些构建体同样地是本发明的实施方式。无Fc部分的干扰素相关抗原结合蛋白将相对于HBV感染具有活性。

[0420] 实施例VII

[0421] VII.a-IFN α / β 基IFA对HBV感染的影响

[0422] VII.a.1. IFN β 基IFA

[0423] 如前所述,对融合至IFN β 的IFA测试了它们在用HBV感染PHH后降低HBeAg释放的能力并且在图17A中显示了实例。结果表明这些IFA对HBV感染具有活性。对于所有所测试的IFA,观察到了剂量-依赖性抑制,其中在1ng/mL获得了12%至52%的降低,并且使用100ng/mL的IFA109观察到了约85%的最大降低。无法达到100%抑制,因为在感染后4天开始处理并且此时已有的HBeAg混合池(mRNA和蛋白)已存在于细胞中并且在此后继续产生。

[0424] VII.a.2. IFN α 基IFA

[0425] 如前所述,还对融合至IFN α 的IFA测试了它们在用HBV感染PHH后降低HBeAg释放的能力并且在图17B中显示了实例。结果表明这些IFN α -基IFA对HBV感染非常有效。对于所有所测试的IFA,也观察到了剂量-依赖性抑制,其在1ng/mL获得了61%至80%的降低并且对于所有IFA,在100ng/mL几乎达到了最大降低(85%至92%之间)。这些表明IFN α -基IFA是非常有效的抗-HBV抗病毒分子。

[0426] 实施例VIII

[0427] 来自人全血细胞的细胞因子释放测定(CRA)

[0428] 如前所述,将WBC离体刺激测定用于研究IFA刺激后的细胞因子释放(参见III.a)。在图18和表13中显示了使用IFA109的实施例。结果表明所有IFA诱导CXCL10释放。它们不诱导IL-10、IL-1 β 和IL-2,并且它们仅诱导极低至中等水平的IFN γ 、IL-6和TNF- α ,因此表明对于炎性细胞因子的诱导具有良好的安全性谱。

[0429] 等价形式

[0430] 在不背离其精神或基本特征的情况下,可以在其它具体形式中体现本发明。因此,认为上述实施方式在所有方面是说明性的,而不是对本发明的限制。因此,通过所附权利要求,而不是通过上述描述指明了本发明的范围,并因此来自权利要求的等价形式的含义和范围内的所有变化旨在包含在本文中。

[0431] 项目

[0432] 考虑以上内容,将理解本发明还涉及以下项目:

[0433] 1.用于治疗乙型肝炎病毒(HBV)感染的干扰素相关抗原结合蛋白,其包含(I)激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段,和(II)干扰素(IFN)或其功能性片段。

[0434] 2.用于根据项目1的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含与SEQ ID NO 3内的CDRL1、CDRL2和CDRL3序列具有至少90%的同一性的3个轻链互补决定区(CDR);和与SEQ ID NO 6内的CDRH1、CDRH2和CDRH3序列具有至少90%的同一性的3个重链CDR。

[0435] 3.用于根据项目1或2的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含与SEQ ID NO 3内的CDRL1、CDRL2和CDRL3序列相同的3个轻链互补决定区(CDR);和与SEQ ID NO 6内的CDRH1、CDRH2和CDRH3序列相同的3个重链CDR。

[0436] 4.用于根据项目2或3的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中根据CDR的Kabat定义、Chothia定义、AbM定义或接触定义来定义每个CDR;优选地其中根据CDR的Kabat定义或者CDR的Chothia定义来定义每个CDR。

[0437] 5.用于根据项目1的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含(a)重链或其片段,其包含与SEQ ID NO 56具有至少90%的同一性的互补决定区(CDR)CDRH1、与SEQ ID NO 57具有至少90%的同一性CDRH2和与SEQ ID NO 58具有至少90%的同一性的CDRH3;和

[0438] (b)轻链或其片段,其包含与SEQ ID NO 52具有至少90%的同一性的CDRL1、与SEQ ID NO 53具有至少90%的同一性的CDRL2和与SEQ ID NO 54具有至少90%的同一性的CDRL3。

[0439] 6.用于根据项目1的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含

[0440] (a)重链或其片段,其包含与SEQ ID NO 56相同的互补决定区(CDR)CDRH1、与SEQ ID NO 57相同的CDRH2和与SEQ ID NO 58相同的CDRH3;和

[0441] (b)轻链或其片段,其包含与SEQ ID NO 52相同的CDRL1、与SEQ ID NO 53相同的CDRL2和与SEQ ID NO 54相同的CDRL3。

[0442] 7.用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含:包含SEQ ID NO 51中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列的轻链可变区 V_L ;和/或包含SEQ ID NO 55中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列的重链可变区 V_H 。

[0443] 8.用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链包含含有SEQ ID NO 12中所示氨基酸序列或与之具有至少90%的同一性的序列的Fab区重链。

[0444] 9.用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段包含:包含SEQ ID NO 3中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列的轻链(LC);和/或包含选自SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49和SEQ ID NO 48的序列或与之具有至少90%的同一性的序列的重链(HC)。

- [0445] 10. 用于根据项目9的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中HC包含SEQ ID NO 6中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。
- [0446] 11. 用于根据项目9的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中HC包含SEQ ID NO 9中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。
- [0447] 12. 用于根据项目9的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中HC包含SEQ ID NO 49中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。
- [0448] 13. 用于根据项目9的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中HC包含SEQ ID NO 48中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。
- [0449] 14. 用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是人干扰素。
- [0450] 15. 用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段选自I型IFN、II型IFN和III型IFN或其功能性片段。
- [0451] 16. 用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是I型IFN或其功能性片段。
- [0452] 17. 用于根据项目16的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中I型IFN或其功能性片段是IFN α 、IFN β 、IFN ω 或IFN ϵ 或其功能性片段。
- [0453] 18. 用于根据项目16的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中I型IFN或其功能性片段是IFN α 或IFN β 或其功能性片段。
- [0454] 19. 用于根据项目16的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中I型IFN或其功能性片段是IFN ω 或其功能性片段。
- [0455] 20. 用于根据项目16的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中I型IFN或其功能性片段是IFN ϵ 或其功能性片段。
- [0456] 21. 用于根据项目1至14中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是IFN α 、IFN β 、IFN γ 、IFN λ 、IFN ω 或者IFN ϵ 或其功能性片段。
- [0457] 22. 用于根据项目21的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是IFN α 或IFN β 或其功能性片段。
- [0458] 23. 用于根据项目22的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是IFN α 或其功能性片段。
- [0459] 24. 用于根据项目23的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或者其功能性片段是IFN α 2a或其功能性片段。
- [0460] 25. 用于根据项目24的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN α 2a包含SEQ ID NO 17中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。
- [0461] 26. 用于根据项目22的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是IFN β 或其功能性片段。
- [0462] 27. 用于根据项目26的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。
- [0463] 28. 用于根据项目26的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 或其功能性片段相对于SEQ ID NO 14包含一个或两个氨基酸替换,其选自C17S和N80Q。
- [0464] 29. 用于根据项目28的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 或其功能性片

段相对于SEQ ID NO 14包含氨基酸替换C17S。

[0465] 30.用于根据项目29的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 15中所示的氨基酸序列。

[0466] 31.用于根据项目28的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 或其功能性片段相对于SEQ ID NO 14包含氨基酸替换C17S和N80Q。

[0467] 32.用于根据项目31的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 16中所示的氨基酸序列。

[0468] 33.用于根据项目21的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是IFN γ 或IFN λ 或其功能性片段。

[0469] 34.用于根据项目33的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是IFN γ 或其功能性片段。

[0470] 35.用于根据项目34的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN γ 包含SEQ ID NO 19中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0471] 36.用于根据项目33的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段是IFN λ 或其功能性片段。

[0472] 37.用于根据项目36的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN λ 或其功能性片段是IFN λ 2或其功能性片段。

[0473] 38.用于根据项目37的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN λ 2包含SEQ ID NO 18中所示序列或与之具有至少90%的同一性的序列。

[0474] 39.用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段与激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段非共价结合。

[0475] 40.用于根据项目39的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段与激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段通过离子、范德华力和/或氢键相互作用非共价结合。

[0476] 41.用于根据项目1至38中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段与激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段共价结合。

[0477] 42.用于根据项目41的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段。

[0478] 43.用于根据项目42的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。

[0479] 44.用于根据项目43的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端。

[0480] 45.用于根据项目43的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的C-末端。

[0481] 46.用于根据项目42的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。

[0482] 47.用于根据项目46的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端。

[0483] 48.用于根据项目46的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN或其功能性片段

融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的C-末端。

[0484] 49.用于根据项目42至48中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中将激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段和IFN或其功能性片段通过接头彼此融合。

[0485] 50.用于根据项目49的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中除了形成(I)激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段,(II)IFN或其功能性片段和(III)接头的那些以外,干扰素相关抗原结合蛋白不包含氨基酸。

[0486] 51.用于根据项目1至49中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中除了形成(I)激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段和(II)IFN或其功能性片段的那些以外,干扰素相关抗原结合蛋白不包含氨基酸。

[0487] 52.用于根据项目49至50中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头是肽接头。

[0488] 53.用于根据项目52的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少1、至少2、至少3、至少4或至少5个氨基酸。

[0489] 54.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少4个氨基酸。

[0490] 55.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少11个氨基酸。

[0491] 56.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少12个氨基酸。

[0492] 57.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少13个氨基酸。

[0493] 58.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少15个氨基酸。

[0494] 59.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少20个氨基酸。

[0495] 60.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少21个氨基酸。

[0496] 61.用于根据项目53的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含至少24个氨基酸。

[0497] 62.用于根据项目52的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至10、多至20、多至30、多至40、多至50、多至60、多至70、多至80、多至90或者多至100个氨基酸。

[0498] 63.用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至80个氨基酸。

[0499] 64.用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至40个氨基酸。

[0500] 65.用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至24个氨基酸。

[0501] 66.用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至21个氨基酸。

- [0502] 67. 用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至20个氨基酸。
- [0503] 68. 用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至15个氨基酸。
- [0504] 69. 用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至13个氨基酸。
- [0505] 70. 用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至12个氨基酸。
- [0506] 71. 用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至11个氨基酸。
- [0507] 72. 用于根据项目62的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含多至4个氨基酸。
- [0508] 73. 用于根据项目52至72中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头选自酸性、碱性和中性接头。
- [0509] 74. 用于根据项目73的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头是酸性接头。
- [0510] 75. 用于根据项目73或74的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 22或SEQ ID NO 23中所示序列。
- [0511] 76. 用于根据项目73的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头是碱性接头。
- [0512] 77. 用于根据项目73的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头是中性接头。
- [0513] 78. 用于根据项目73或77的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 20、SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或者SEQ ID NO 26中所示序列。
- [0514] 79. 用于根据项目52至78中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头选自刚性、柔性和螺旋-形成接头。
- [0515] 80. 用于根据项目79的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头是刚性接头。
- [0516] 81. 用于根据项目79或80的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 20、SEQ ID NO 22或SEQ ID NO 23中所示序列。
- [0517] 82. 用于根据项目79的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头是柔性接头。
- [0518] 83. 用于根据项目79或82的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或者SEQ ID NO 26中所示序列。
- [0519] 84. 用于根据项目79的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头是螺旋-形成接头。
- [0520] 85. 用于根据项目79或84的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 22或SEQ ID NO 23中所示序列。
- [0521] 86. 用于根据项目52至74、76、77、79、80、82或84中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含氨基酸甘氨酸和丝氨酸。
- [0522] 87. 用于根据项目86的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 21、SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或者SEQ ID NO 26中所示序列。
- [0523] 88. 用于根据项目86的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头还包括氨基酸苏氨酸。

- [0524] 89. 用于根据项目88的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 21中所示序列。
- [0525] 90. 用于根据项目52的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含选自如SEQ ID NO 20至26中所示序列的序列。
- [0526] 91. 用于根据项目90的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含选自SEQ ID NO 24、SEQ ID NO 25或SEQ ID NO 26中所示序列的序列。
- [0527] 92. 用于根据项目91的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 24中所示序列。
- [0528] 93. 用于根据项目91的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 25中所示序列。
- [0529] 94. 用于根据项目91的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中接头包含SEQ ID NO 26中所示序列。
- [0530] 95. 用于根据项目49、50或52至94中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中将IFN或其功能性片段通过表3,具体地表3A或表3B,更具体地表3A中所示的接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的C-末端。
- [0531] 96. 用于根据项目95的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 12、SEQ ID NO 48或者SEQ ID NO 49中所示序列。
- [0532] 97. 用于根据项目95或96的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN α 2a包含SEQ ID NO 17中所示序列。
- [0533] 98. 用于根据项目95或96的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。
- [0534] 99. 用于根据项目98的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14中所示序列。
- [0535] 100. 用于根据项目98的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 15中所示序列。
- [0536] 101. 用于根据项目98的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 16中所示序列。
- [0537] 102. 用于根据项目95或96的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN γ 包含SEQ ID NO 19中所示序列。
- [0538] 103. 用于根据项目95或96的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN λ 2包含SEQ ID NO 18中所示序列。
- [0539] 104. 用于根据项目95至103中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白还包含激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。
- [0540] 105. 用于根据项目104的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列。
- [0541] 106. 用于根据项目49、50或52至94中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中将IFN或其功能性片段通过表4,具体地表4A或表4B,更具体地表4A中所示的接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链的N-末端。

[0542] 107.用于根据项目106的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 48或者SEQ ID NO 12中所示序列。

[0543] 108.用于根据项目106或107的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN α 2a包含SEQ ID NO 17中所示序列。

[0544] 109.用于根据项目106或107的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。

[0545] 110.用于根据项目109的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14中所示序列。

[0546] 111.用于根据项目109的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 15中所示序列。

[0547] 112.用于根据项目109的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 16中所示序列。

[0548] 113.用于根据项目106或107的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN γ 包含SEQ ID NO 19中所示序列。

[0549] 114.用于根据项目106或107的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN λ 2包含SEQ ID NO 18中所示序列。

[0550] 115.用于根据项目106至114中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白还包含激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链。

[0551] 116.用于根据项目115的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列。

[0552] 117.用于根据项目49、50或52至94中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中将IFN或其功能性片段通过表5,具体地表5A或表5B,更具体地表5A中所示的接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的C-末端。

[0553] 118.用于根据项目117的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列。

[0554] 119.用于根据项目117或118的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN α 2a包含SEQ ID NO 17中所示序列。

[0555] 120.用于根据项目117或118的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。

[0556] 121.用于根据项目120的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14中所示序列。

[0557] 122.用于根据项目120的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 15中所示序列。

[0558] 123.用于根据项目120的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 16中所示序列。

[0559] 124.用于根据项目117或118的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN γ 包含SEQ ID NO 19中所示序列。

[0560] 125.用于根据项目117或118的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN λ 2包含

SEQ ID NO 18中所示序列。

[0561] 126.用于根据项目117至125中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白还包含激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链。

[0562] 127.用于根据项目126的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体的重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 48或者SEQ ID NO 12中所示序列。

[0563] 128.用于根据项目49、50或52至94中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中将IFN通过表6,具体地表6A或表6B,更具体地表6A中所示的接头融合至激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链的N-末端。

[0564] 129.用于根据项目128的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的轻链包含SEQ ID NO 3中所示序列。

[0565] 130.用于根据项目128或129的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN α 2a包含SEQ ID NO 17中所示序列。

[0566] 131.用于根据项目128或129的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14、SEQ ID NO 15或SEQ ID NO 16中所示序列。

[0567] 132.用于根据项目131的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 14中所示序列。

[0568] 133.用于根据项目131的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 15中所示序列。

[0569] 134.用于根据项目131的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN β 包含SEQ ID NO 16中所示序列。

[0570] 135.用于根据项目128或129的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN γ 包含SEQ ID NO 19中所示序列。

[0571] 136.用于根据项目128或129的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN λ 2包含SEQ ID NO 18中所示序列。

[0572] 137.用于根据项目128至136中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白还包含抗-CD40抗体或其激动性抗原结合片段的重链。

[0573] 138.用于根据项目137的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中激动性抗-CD40抗体的重链包含SEQ ID NO 6、SEQ ID NO 9、SEQ ID NO 49、SEQ ID NO 48或者SEQ ID NO 12中所示序列。

[0574] 139.用于根据项目1至138中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白包含选自下列的序列:SEQ ID NO 28、SEQ ID NO 29、SEQ ID NO 30、SEQ ID NO 31、SEQ ID NO 32、SEQ ID NO 33、SEQ ID NO 34、SEQ ID NO 35、SEQ ID NO 36、SEQ ID NO 37、SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、SEQ ID NO 40、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42、SEQ ID NO 43、SEQ ID NO 44、SEQ ID NO 45、SEQ ID NO 46和SEQ ID NO 47。

[0575] 140.用于根据项目139的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白包含选自下列的序列:SEQ ID NO 38、SEQ ID NO 39、SEQ ID NO 40、SEQ ID NO 41、SEQ ID NO 42或SEQ ID NO 43。

[0576] 141.用于根据项目139或140的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关

抗原结合蛋白是包含表9,具体地表9A或表9B,更具体地表9A中所公开的序列组合之一的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0577] 142.用于根据项目141的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白是包含SEQ ID NO 38和SEQ ID NO 3中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0578] 143.用于根据项目141的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白是包含SEQ ID NO 39和SEQ ID NO 3中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0579] 144.用于根据项目141的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白是包含SEQ ID NO 40和SEQ ID NO 3中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0580] 145.用于根据项目141的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白是包含SEQ ID NO 41和SEQ ID NO 9中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0581] 146.用于根据项目141的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白是包含SEQ ID NO 42和SEQ ID NO 9中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0582] 147.用于根据项目141的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白是包含SEQ ID NO 43和SEQ ID NO 9中所示序列的干扰素融合的激动性抗-CD40抗体或干扰素融合的其激动性抗原结合片段。

[0583] 148.用于根据项目1至147中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白激活CD40和IFN通路两者。

[0584] 149.用于根据项目148的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中使用全血表面分子上调测定或体外报告细胞测定确定CD40活性。

[0585] 150.用于根据项目149的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中使用体外报告细胞测定,任选地使用HEK-Blue™CD40L细胞确定CD40活性。

[0586] 151.用于根据项目148至150中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白以小于400、300、200、150、100、70、60、50、40、30、25、20或15ng/mL的EC₅₀激活CD40通路。

[0587] 152.用于根据项目151的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白以10至200ng/mL的范围内的EC₅₀激活CD40通路。

[0588] 153.用于根据项目152的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白以10至50ng/mL,优选地10至30ng/mL的范围内的EC₅₀激活CD40通路。

[0589] 154.用于根据项目148至153中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白以小于100、60、50、40、30、20、10或1ng/mL的EC₅₀激活IFN通路。

[0590] 155.用于根据项目148至154中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白以小于11ng/mL,优选地小于6ng/mL的EC₅₀激活IFN通路。

[0591] 156.用于根据项目148至155中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中IFN通路是IFN α 、IFN β 、IFN ϵ 、IFN γ 、IFN ω 或者IFN λ 通路。

- [0592] 157. 用于根据项目156的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中使用体外报告细胞测定, 任选地使用HEK-Blue™IFN- α / β 细胞确定IFN β 活性。
- [0593] 158. 用于根据项目156的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中使用体外报告细胞测定, 任选地使用HEK-Blue™IFN- α / β 细胞确定IFN α 活性。
- [0594] 159. 用于根据项目156的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中使用体外报告细胞测定, 任选地使用HEK-Blue™Dual IFN- γ 细胞确定IFN γ 活性。
- [0595] 160. 用于根据项目156的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中使用体外报告细胞测定, 任选地使用HEK-Blue™IFN- λ 细胞确定IFN λ 活性。
- [0596] 161. 用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中以1ng/mL, 干扰素相关抗原结合蛋白将原代肝细胞的体外HBeAg释放降低了至少12%。
- [0597] 162. 用于根据项目161的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中以1ng/mL, 干扰素相关抗原结合蛋白将原代肝细胞的体外HBeAg释放降低了多至90%。
- [0598] 163. 用于根据项目161的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中干扰素相关抗原结合蛋白以小于30ng/mL的EC₅₀降低HBeAg释放。
- [0599] 164. 用于根据项目163的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中干扰素相关抗原结合蛋白以小于10ng/mL的EC₅₀降低HBeAg释放。
- [0600] 165. 用于根据项目164的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中干扰素相关抗原结合蛋白以小于1ng/mL的EC₅₀降低HBeAg释放。
- [0601] 166. 用于根据项目164的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中干扰素相关抗原结合蛋白以小于0.1ng/mL的EC₅₀降低HBeAg释放。
- [0602] 167. 用于根据以上项目, 具体地项目148至165中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中通过用干扰素相关抗原结合蛋白处理, HBV-感染的细胞中一种或多种IFN通路生物标志物的表达水平上调, 优选地至少1.5-倍, 更优选地至少2-倍, 最优选地至少3-倍。
- [0603] 168. 用于根据项目167的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中IFN通路生物标志物是趋化因子。
- [0604] 169. 用于根据项目168的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中IFN通路生物标志物是干扰素刺激的基因ISG20。
- [0605] 170. 用于根据项目168的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中IFN通路生物标志物是C-X-C趋化因子, 其选自CXCL9、CXCL10和CXCL11。
- [0606] 171. 用于根据项目170的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中IFN通路生物标志物是CXCL10。
- [0607] 172. 用于根据以上项目, 具体地项目148至171中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中通过用干扰素相关抗原结合蛋白处理, HBV-感染的细胞中IL10、IL1 β 和IL2中的一种或多种的表达水平未显著上调。
- [0608] 173. 用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中与抗体CP870,893相比, 干扰素相关抗原结合蛋白的全身暴露提高, 优选地提高至少10%, 更优选地提高至少15%, 最优选地提高至少25%。
- [0609] 174. 用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白, 其中干扰素

相关抗原结合蛋白的全身暴露为至少1000 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 。

[0610] 175.用于根据项目174的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白的全身暴露在1033 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 至1793 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ 的范围内。

[0611] 176.用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白的半衰期为至少100h。

[0612] 177.用于根据项目176的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白的半衰期在116至158h的范围内。

[0613] 178.用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白的清除率低于0.5 $\text{mL}/\text{h}/\text{kg}$ 。

[0614] 179.用于根据项目178的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白的清除在0.28至0.49 $\text{mL}/\text{h}/\text{kg}$ 的范围内。

[0615] 180.用于根据项目1至179中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白的分布容积 V_{ss} 低于100 mL/kg 。

[0616] 181.用于根据项目180的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白的分布容积 V_{ss} 在50至98 mL/kg 的范围内。

[0617] 182.用于根据以上项目中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中用途包括通过编码干扰素相关抗原结合蛋白的RNA或DNA序列或者编码干扰素相关抗原结合蛋白的载体或载体体系的基因递送,向对其有需要的受试者施用干扰素相关抗原结合蛋白。

[0618] 183.用于根据项目1至182中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中干扰素相关抗原结合蛋白包含在药物组合物内。

[0619] 184.用于根据项目183的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物适合于口服、肠胃外或局部施用或者通过吸入施用。

[0620] 185.用于根据项目184的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物适合于口服。

[0621] 186.用于根据项目184的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物适合于局部施用。

[0622] 187.用于根据项目184的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物适合于通过吸入施用。

[0623] 188.用于根据项目184的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物适合于肠胃外施用。

[0624] 189.用于根据项目188的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物适合于静脉内、动脉内、腹膜内、肌内、皮下、直肠或阴道施用。

[0625] 190.用于根据项目189的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物适合于注射,优选地静脉内或动脉内注射或滴注。

[0626] 191.用于根据项目183至190中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物包含至少一种缓冲剂。

[0627] 192.用于根据项目191的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中缓冲剂为乙酸盐、甲酸盐或柠檬酸盐。

[0628] 193.用于根据项目192的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中缓冲剂是乙酸盐。

- [0629] 194.用于根据项目192的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中缓冲剂为甲酸盐。
- [0630] 195.用于根据项目192的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中缓冲剂为柠檬酸盐。
- [0631] 196.用于根据项目183至195中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物包含表面活性剂。
- [0632] 197.用于根据项目196的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中表面活性剂选自普卢兰尼克(pluronic)、PEG、脱水山梨糖醇酯、聚山梨醇酯、triton、氨丁三醇、卵磷脂、胆固醇和泰洛沙泊(tyloxapal)。
- [0633] 198.用于根据项目197的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中表面活性剂为聚山梨醇酯。
- [0634] 199.用于根据项目198的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中表面活性剂为聚山梨醇酯20、聚山梨醇酯40、聚山梨醇酯60、聚山梨醇酯80或聚山梨醇酯100。
- [0635] 200.用于根据项目199的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中表面活性剂为聚山梨醇酯20。
- [0636] 201.用于根据项目199的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中表面活性剂为聚山梨醇酯80。
- [0637] 202.用于根据项目183至201中任一项的用途的干扰素相关抗原结合蛋白,其中药物组合物包含稳定剂,任选地其中稳定剂为白蛋白。

表 11a: IFN- β 基 IFA		IFN- γ	IL10	IL12p40	IL1 β	IL2	IL6	IP10	TFN α
NT	供体 1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	457.0	nd
	供体 2	nd	nd	101.4	nd	nd	nd	672.7	4.6
	供体 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	302.3	nd
	供体 4	nd	nd	104.0	nd	nd	nd	648.2	nd
LPS	供体 1	2023.0	148.0	7757.1	5116.0	nd	20709.6	6646.7	1706.3
	供体 2	4675.6	57.2	6265.6	6263.7	20.7	11070.1	39539.4	2987.1
	供体 3	1537.3	192.9	1750.0	3137.6	nd	16837.7	6141.0	944.9
	供体 4	2360.7	299.7	1676.5	6423.0	18.6	20654.0	22848.2	1107.2
IFA1	供体 1	98.1	nd	nd	nd	nd	16.3	46033.6	43.7
	供体 2	nd	nd	118.8	nd	nd	11.8	43545.5	36.6
	供体 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	23562.1	34.0
	供体 4	nd	nd	nd	nd	nd	nd	31922.5	57.1
IFA2	供体 1	nd	nd	nd	nd	nd	18.6	43382.3	41.0
	供体 2	nd	nd	114.2	nd	nd	17.4	43283.4	33.8
	供体 3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	25961.4	32.2
	供体 4	109.4	nd	nd	nd	nd	nd	38445.0	66.0

[0638]

表 11b: IFN- α 基 IFA		IFN- γ	IL10	IL12p40	IL1 β	IL2	IL6	IP10	TFN α
NT	供体 5	12.6	0.6	91.6	0.9	0.9	3.9	270.3	2.1
	供体 6	5.0	1.1	129.9	19.9	#DIV/0!	423.2	1052.7	16.0
	供体 7	16.5	2.0	143.7	22.1	2.1	426.9	1025.0	12.6
	供体 8	9.7	0.1	58.3	1.8	#DIV/0!	2.6	594.2	2.2
LPS	供体 5	10848.1	46.6	8463.3	8712.3	10.5	30713.2	20538.9	1738.3
	供体 6	2467.1	175.6	5364.9	6557.9	3.3	31735.5	17262.6	2583.3
	供体 7	3310.1	248.6	6814.8	9123.9	16.6	39139.8	59939.2	6270.1
	供体 8	2555.6	138.5	2942.9	6767.5	9.6	31756.7	20062.7	1265.5
IFA25	供体 5	495.5	1.5	99.5	1.9	5.5	30.5	39637.5	30.4
	供体 6	312.2	2.0	129.8	16.5	4.0	51.8	61963.8	71.4
	供体 7	271.2	2.9	130.3	9.1	4.4	75.0	133442.5	30.3
	供体 8	441.6	1.9	74.8	6.8	3.2	44.3	95647.9	87.4
IFA26	供体 5	330.4	2.0	98.1	2.1	6.4	29.3	37880.2	32.1
	供体 6	303.7	3.3	150.8	17.1	3.1	53.0	72944.8	45.7
	供体 7	180.3	2.0	135.6	9.2	4.9	75.2	154696.3	29.7
	供体 8	421.4	2.8	95.7	6.8	4.1	42.1	79768.5	89.1
IFA27	供体 5	430.7	2.2	127.8	3.1	7.1	32.9	40214.1	61.3
	供体 6	286.5	2.0	148.5	16.8	2.1	66.0	83445.0	70.1
	供体 7	350.3	4.7	117.6	9.3	4.4	73.5	195844.6	105.6
	供体 8	440.1	2.6	68.6	8.9	0.6	46.9	102676.8	43.4
IFA28	供体 5	620.1	2.7	127.3	3.4	8.7	35.0	40958.5	24.6
	供体 6	264.7	2.0	170.3	13.6	2.4	45.7	62333.3	33.0
	供体 7	289.6	2.7	144.8	13.7	3.9	77.1	176521.8	59.6
	供体 8	436.2	2.5	74.4	4.9	2.3	36.8	79217.6	37.6
IFA29	供体 5	692.7	1.3	108.7	2.3	3.7	33.9	55062.8	30.3
	供体 6	183.1	2.2	158.8	11.6	0.4	44.4	58665.4	44.3
	供体 7	235.5	2.6	127.6	9.6	2.0	65.6	136893.2	90.5
	供体 8	301.1	3.0	77.7	5.8	0.6	33.8	69226.3	48.0
IFA30	供体 5	709.7	1.2	110.6	2.9	5.5	38.0	63040.7	36.5
	供体 6	122.9	2.0	153.0	14.9	1.7	46.1	67861.2	37.4
	供体 7	64.6	1.0	114.0	10.0	2.9	75.5	149093.0	32.7
	供体 8	206.0	1.9	71.1	6.8	1.8	37.9	85986.9	40.5

[0639] 表12A

[0640]

基质	化合物	剂量 生命阶段	方法	C0 ($\mu\text{g/mL}$)	AUC (0- 最后) ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	T _{最后} (h)	AUC (0- inf) ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	外推 %	T _{1/2t} (h)	Cl (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
血清	CP870,893	0,5 mg/kg 168h	ELISA- IgG2	7,15	241	168	590	59	264 (长)	0,35 (低)	296 (低)
血清	IFA27	0,5 mg/kg 240h	ELISA- IgG2	14,7	1501	240	2552	41	218 (长)	0,20 (低)	55 (低)
血清	IFA27	0,5 mg/kg 240h	ELISA-IFN	16,9	1318	240	1793	26	125 (长)	0,28 (低)	50 (低)
血清	IFA29	0,5 mg/kg 240h	ELISA-IFN	11,6	804	240	1033	22	116 (长)	0,49 (低)	78 (低)
血清	IFA30	0,5 mg/kg 240h	ELISA-IFN	8,12	741	240	1089	31	158 (长)	0,46 (低)	98 (低)

[0641] 表12B

[0642]

基质	化合物	剂量 生命阶段	方法	C0 ($\mu\text{g/mL}$)	AUC (0- 最后) ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	T _{最后} (h)	AUC (0- inf) ($\mu\text{g}\cdot\text{h/mL}$)	外推 %	T _{1/2t} (h)	Cl (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
血清	IFA25	0,5 mg/kg 504h	ELISA-IFN	7,45	1328	504	1500	11	154 (长)	0,34 (低)	73 (低)
血清	IFA26	0,5 mg/kg 504h	ELISA-IFN	8,20	988	336	1027	3,8	59 (长)	0,49 (低)	57 (低)
血清	IFA28	0,5 mg/kg 504h	ELISA-IFN	9,38	1048	504	1264	17	213 (长)	0,40 (低)	105 (低)
血清	Pegasys	0,3 mg/kg 504h	ELISA- IFN α 特异性	8,3	210	168	215	2	30 (中等)	1,4 (低)	62 (低)
血清	CP870,893	0,5 mg/kg 504h	ELISA- IgG2	11,9	527	168	797	34	116 (长)	0,63 (低)	96 (低)
血清	IFA25	0,5 mg/kg 504h	ELISA- IgG2	11,8	1292	240	1971	34	155 (长)	0,26 (低)	56 (低)

[0643] 表13

[0644]

条件	供体	IFN γ	IL10	IL12p40	IL1b	IL2	IL6	IP10	TFN α
NT	D1	nd	nd	nd	nd	nd	nd	457,0	nd
	D2	nd	nd	101,4	nd	nd	nd	672,7	4,63
	D3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	302,3	nd
	D4	nd	nd	104,0	nd	nd	nd	648,2	nd
LPS	D1	2023	148	7757	5116	nd	20710	6647	1706
	D2	4676	57	6266	6264	21	11070	39539	2987
	D3	1537	193	1750	3138	nd	16838	6141	945
	D4	2361	300	1677	6423	19	20654	22848	1107
IFA109	D1	nd	nd	nd	nd	nd	13,48	44495,49	43,63
	D2	nd	nd	116,29	nd	nd	10,6	44030,74	37,52
	D3	nd	nd	nd	nd	nd	nd	31506,88	62,17
	D4	nd	nd	103,45	nd	nd	nd	45005,31	133,02

序列表

<110> 埃沃特克国际有限责任公司(Evotec International GmbH)
赛诺菲(SANOFI)

<120> 用于治疗乙型肝炎感染的干扰素相关抗原结合蛋白

<130> EV022745PCT-A

<150> EP19 306 572.9

<151> 2019-12-04

<150> EP19 306 551.3

<151> 2019-12-03

<160> 88

<170> BiSSAP 1.3.6

<210> 1

<211> 19

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 信号肽1

<400> 1

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1 5 10 15

Val His Ser

<210> 2

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 信号肽2

<400> 2

Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp

1 5 10 15

Leu Arg Gly Ala Arg Cys

20

<210> 3

<211> 214

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40抗体轻链

<400> 3

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210

<210> 4

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有信号肽1的抗CD40抗体轻链

<400> 4

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala

	20		25		30										
Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile
	35						40					45			
Tyr	Ser	Trp	Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Asn
	50						55					60			
Leu	Leu	Ile	Tyr	Thr	Ala	Ser	Thr	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg
65					70					75					80
Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser
				85					90						95
Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Ile
			100					105						110	
Phe	Pro	Leu	Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr
			115					120						125	
Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu
			130				135						140		
Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro
145					150						155				160
Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly
					165						170				175
Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr
			180						185						190
Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His
			195						200						205
Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val
			210						215						220
Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys							
225															230
<210>	5														
<211>	236														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	具有信号肽2的抗CD40抗体轻链														
<400>	5														
Met	Asp	Met	Arg	Val	Pro	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp
1				5						10					15
Leu	Arg	Gly	Ala	Arg	Cys	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser
			20								25				30
Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser

35	40	45																	
Gln Gly Ile Tyr Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys																			
50	55	60																	
Ala Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val																			
65	70	75																	
Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr																			
	85	90																	
Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln																			
	100	105																	
Ala Asn Ile Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile																			
	115	120																	
Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp																			
	130	135																	
Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn																			
	145	150																	
Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu																			
	165	170																	
Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp																			
	180	185																	
Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr																			
	195	200																	
Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser																			
	210	215																	
Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys																			
	225	230																	
<210> 6																			
<211> 451																			
<212> PRT																			
<213> 人工序列																			
<220>																			
<223> 抗CD40抗体重链hIgG2 dK																			
<400> 6																			
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala																			
1	5	10																	
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr																			
	20	25																	
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met																			
	35	40																	
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe																			

50	55	60															
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr																	
65	70	75	80														
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys																	
	85	90	95														
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr																	
	100	105	110														
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser																	
	115	120	125														
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr																	
	130	135	140														
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro																	
	145	150	155	160													
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val																	
	165	170	175														
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser																	
	180	185	190														
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr																	
	195	200	205														
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val																	
	210	215	220														
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val																	
	225	230	235	240													
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu																	
	245	250	255														
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser																	
	260	265	270														
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu																	
	275	280	285														
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr																	
	290	295	300														
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn																	
	305	310	315	320													
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro																	
	325	330	335														
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln																	
	340	345	350														
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val																	
	355	360	365														

Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly
 450
 <210> 7
 <211> 470
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 具有信号肽1的抗CD40抗体重链hIgG2 dK
 <400> 7
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala
 65 70 75 80
 Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val
 115 120 125
 Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 130 135 140
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 145 150 155 160

Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 165 170 175
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 180 185 190
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 195 200 205
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln
 210 215 220
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 225 230 235 240
 Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 260 265 270
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 275 280 285
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 290 295 300
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 305 310 315 320
 Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp
 325 330 335
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 340 345 350
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
 355 360 365
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 370 375 380
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 385 390 395 400
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser
 435 440 445
 Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 450 455 460
 Leu Ser Leu Ser Pro Gly

	245		250		255										
Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro
	260		265		270										
Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys
	275		280		285										
Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp
	290		295		300										
Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu
305			310		315				320						
Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val
	325		330		335										
His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn
	340		345		350										
Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly
	355		360		365										
Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu
	370		375		380										
Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr
385			390		395				400						
Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn
	405		410		415										
Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe
	420		425		430										
Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn
	435		440		445										
Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr
	450		455		460										
Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly							
465			470												
<210>	9														
<211>	452														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	抗CD40抗体重链hIgG2														
<400>	9														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1			5						10					15	
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr

	20		25		30														
Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met				
	35						40					45							
Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Asp	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe				
	50						55					60							
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr				
65					70				75						80				
Met	Glu	Leu	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
					85				90						95				
Ala	Arg	Asp	Gln	Pro	Leu	Gly	Tyr	Cys	Thr	Asn	Gly	Val	Cys	Ser	Tyr				
					100				105						110				
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser				
					115				120						125				
Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr				
					130				135						140				
Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro				
145					150				155						160				
Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val				
					165				170						175				
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser				
					180				185						190				
Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr				
					195				200						205				
Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val				
					210				215						220				
Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val				
225					230				235						240				
Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu				
					245				250						255				
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser				
					260				265						270				
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu				
					275				280						285				
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr				
					290				295						300				
Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn				
305					310				315						320				
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro				
					325				330						335				

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Lys
 450
 <210> 10
 <211> 471
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 具有信号肽1的抗CD40抗体重链hIgG2
 <400> 10
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys
 20 25 30
 Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe
 35 40 45
 Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala
 65 70 75 80
 Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser
 85 90 95
 Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val
 115 120 125

Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 130 135 140
 Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser
 145 150 155 160
 Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp
 165 170 175
 Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr
 180 185 190
 Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr
 195 200 205
 Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln
 210 215 220
 Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp
 225 230 235 240
 Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 245 250 255
 Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys
 260 265 270
 Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val
 275 280 285
 Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp
 290 295 300
 Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe
 305 310 315 320
 Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp
 325 330 335
 Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 340 345 350
 Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg
 355 360 365
 Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys
 370 375 380
 Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 385 390 395 400
 Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 405 410 415
 Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 420 425 430
 Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser

	435		440		445
Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser					
	450		455		460
Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys					
465			470		
<210> 11					
<211> 474					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 具有信号肽2的抗CD40抗体重链hIgG2					
<400> 11					
Met Asp Met Arg Val Pro Ala Gln Leu Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp					
1	5		10		15
Leu Arg Gly Ala Arg Cys Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu					
	20		25		30
Val Lys Lys Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly					
	35		40		45
Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly					
	50		55		60
Gln Gly Leu Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr					
65		70		75	80
Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr					
	85		90		95
Ser Ile Ser Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp					
	100		105		110
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr					
	115		120		125
Asn Gly Val Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val					
	130		135		140
Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala					
145		150		155	160
Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu					
	165		170		175
Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly					
	180		185		190
Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser					
	195		200		205
Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe					

210	215	220
Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr		
225	230	235
Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro		
	245	250
Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro		
	260	265
Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys		
	275	280
Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp		
290	295	300
Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu		
305	310	315
Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val		
	325	330
His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn		
	340	345
Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly		
	355	360
Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu		
370	375	380
Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr		
385	390	395
Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn		
	405	410
Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe		
	420	425
Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn		
	435	440
Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr		
	450	455
Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
465	470	
<210> 12		
<211> 231		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40抗体hIgG2 Fab区重链		

<400> 12

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
 210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu
 225 230

<210> 13

<211> 250

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 具有信号肽1的抗CD40抗体hIgG2 Fab区重链

<400> 13

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly

1	5	10	15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys			
	20	25	30
Pro Gly Ala Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe			
	35	40	45
Thr Gly Tyr Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu			
	50	55	60
Glu Trp Met Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala			
65	70	75	80
Gln Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser			
	85	90	95
Thr Ala Tyr Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val			
	100	105	110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val			
	115	120	125
Cys Ser Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
	130	135	140
Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser			
145	150	155	160
Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp			
	165	170	175
Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr			
	180	185	190
Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr			
	195	200	205
Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln			
	210	215	220
Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp			
225	230	235	240
Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu			
	245	250	

<210> 14

<211> 166

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> IFN β

<400> 14

Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln

1	5	10	15
Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu			
	20	25	30
Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln			
	35	40	45
Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln			
	50	55	60
Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn			
65	70	75	80
Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn			
	85	90	95
His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr			
	100	105	110
Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg			
	115	120	125
Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr			
	130	135	140
Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu			
145	150	155	160
Thr Gly Tyr Leu Arg Asn			
	165		

<210> 15

<211> 166

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IFN β C17S

<400> 15

Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln			
1	5	10	15
Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu			
	20	25	30
Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln			
	35	40	45
Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln			
	50	55	60
Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn			
65	70	75	80
Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn			

	85	90	95
His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr			
	100	105	110
Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg			
	115	120	125
Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr			
	130	135	140
Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu			
145	150	155	160
Thr Gly Tyr Leu Arg Asn			
	165		
<210> 16			
<211> 166			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> IFN β ² C17S,N80Q			
<400> 16			
Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln			
1	5	10	15
Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu			
	20	25	30
Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln			
	35	40	45
Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln			
	50	55	60
Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Gln			
65	70	75	80
Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn			
	85	90	95
His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr			
	100	105	110
Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg			
	115	120	125
Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr			
	130	135	140
Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu			
145	150	155	160
Thr Gly Tyr Leu Arg Asn			

165

<210> 17

<211> 165

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> IFNÎ±2a

<400> 17

Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 1 5 10 15
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 20 25 30
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 35 40 45
 Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 50 55 60
 Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 65 70 75 80
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 85 90 95
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys
 100 105 110
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 115 120 125
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 130 135 140
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 145 150 155 160
 Leu Arg Ser Lys Glu

165

<210> 18

<211> 175

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> IFNÎ»2

<400> 18

Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys
 1 5 10 15

His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe
 20 25 30
 Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys
 35 40 45
 Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu
 50 55 60
 Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr
 65 70 75 80
 Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp
 85 90 95
 Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe
 100 105 110
 Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly
 115 120 125
 Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu
 130 135 140
 Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu
 145 150 155 160
 Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val
 165 170 175

<210> 19

<211> 143

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<223> IFN γ ³

<400> 19

Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu Asn Leu Lys Lys Tyr Phe Asn
 1 5 10 15
 Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn Gly Thr Leu Phe Leu Gly Ile
 20 25 30
 Leu Lys Asn Trp Lys Glu Glu Ser Asp Arg Lys Ile Met Gln Ser Gln
 35 40 45
 Ile Val Ser Phe Tyr Phe Lys Leu Phe Lys Asn Phe Lys Asp Asp Gln
 50 55 60
 Ser Ile Gln Lys Ser Val Glu Thr Ile Lys Glu Asp Met Asn Val Lys
 65 70 75 80
 Phe Phe Asn Ser Asn Lys Lys Lys Arg Asp Asp Phe Glu Lys Leu Thr
 85 90 95

Asn Tyr Ser Val Thr Asp Leu Asn Val Gln Arg Lys Ala Ile His Glu
 100 105 110
 Leu Ile Gln Val Met Ala Glu Leu Ser Pro Ala Ala Lys Thr Gly Lys
 115 120 125
 Arg Lys Arg Ser Gln Met Leu Phe Arg Gly Arg Arg Ala Ser Gln
 130 135 140

<210> 20

<211> 4

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> RL接头

<400> 20

Pro Ala Pro Ala

1

<210> 21

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> GST接头

<400> 21

Ser Gly Gly Thr Ser Gly Ser Thr Ser Gly Thr Gly Ser

1

5

10

<210> 22

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HL接头

<400> 22

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

1

5

10

<210> 23

<211> 24

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> HL2接头

<400> 23

Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Ala Glu Ala Ala

1 5 10 15

Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala

20

<210> 24

<211> 10

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> G4S2接头

<400> 24

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10

<210> 25

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> G4S3接头

<400> 25

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser

1 5 10 15

<210> 26

<211> 20

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> G4S4接头

<400> 26

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly

1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser

20

<210> 27

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala
 210 215 220
 Lys Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn
 225 230 235 240
 Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr
 245 250 255
 Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln
 260 265 270
 Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met
 275 280 285
 Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly
 290 295 300
 Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln
 305 310 315 320
 Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp
 325 330 335
 Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr
 340 345 350
 Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala
 355 360 365
 Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn
 370 375 380
 Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn

	245	250	255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser			
	260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu			
	275	280	285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr			
	290	295	300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn			
305	310	315	320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro			
	325	330	335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln			
	340	345	350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val			
	355	360	365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val			
	370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro			
385	390	395	400
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr			
	405	410	415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val			
	420	425	430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu			
	435	440	445
Ser Pro Gly Pro Ala Pro Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu			
	450	455	460
Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn			
465	470	475	480
Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro			
	485	490	495
Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu			
	500	505	510
Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp			
	515	520	525
Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala			
	530	535	540
Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys			
545	550	555	560

Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His
 565 570 575
 Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu
 580 585 590
 Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn
 595 600 605
 Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 610 615 620
 <210> 31
 <211> 621
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--RL--IFNÎ²_C17S
 <400> 31
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190

Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
 210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240
 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300
 Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Pro Ala Pro Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu
 450 455 460
 Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn
 465 470 475 480
 Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro
 485 490 495
 Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu

130	135	140																	
Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro				
145	150	155	160																
Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val				
	165	170	175																
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser				
	180	185	190																
Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr				
	195	200	205																
Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val				
210	215	220																	
Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val				
225	230	235	240																
Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu				
	245	250	255																
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser				
	260	265	270																
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu				
275	280	285																	
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr				
290	295	300																	
Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn				
305	310	315	320																
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro				
	325	330	335																
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln				
340	345	350																	
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val				
355	360	365																	
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val				
370	375	380																	
Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro				
385	390	395	400																
Pro	Met	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr				
	405	410	415																
Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val				
	420	425	430																
Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu				
435	440	445																	

Ser Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Met
 450 455 460
 Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Cys
 465 470 475 480
 Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys
 485 490 495
 Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln
 500 505 510
 Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn
 515 520 525
 Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu
 530 535 540
 Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His
 545 550 555 560
 Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg
 565 570 575
 Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile
 580 585 590
 Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile
 595 600 605
 Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr
 610 615 620
 Gly Tyr Leu Arg Asn
 625
 <210> 33
 <211> 629
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFNÎ²_C17S
 <400> 33
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr																		
65					70					75								80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys																		
					85					90								95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr																		
					100					105								110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser																		
					115					120								125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr																		
					130					135								140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro																		
145					150					155								160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val																		
					165					170								175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser																		
					180					185								190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr																		
					195					200								205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val																		
					210					215								220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val																		
225					230					235								240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu																		
					245					250								255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser																		
					260					265								270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu																		
					275					280								285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr																		
					290					295								300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn																		
305					310					315								320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro																		
					325					330								335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln																		
					340					345								350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val																		
					355					360								365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val																		

370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
	405	410
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
	420	425
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
	435	440
Ser Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Met		
450	455	460
Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser		
465	470	475
Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys		
	485	490
Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln		
	500	505
Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn		
	515	520
Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu		
530	535	540
Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His		
545	550	555
Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg		
	565	570
Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile		
	580	585
Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile		
	595	600
Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr		
610	615	620
Gly Tyr Leu Arg Asn		
625		
<210> 34		
<211> 384		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40 _{LC} -- RL--IFN $\hat{\imath}$ ²		

Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu
 305 310 315 320
 Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser
 325 330 335
 Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys
 340 345 350
 Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile
 355 360 365
 Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 370 375 380
 <210> 35
 <211> 384
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_LC--RL--IFNÎ²_C17S
 <400> 35
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175

Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Pro Ala Pro Ala Met Ser Tyr Asn Leu Leu
 210 215 220
 Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp
 225 230 235 240
 Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe
 245 250 255
 Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp
 260 265 270
 Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe
 275 280 285
 Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn
 290 295 300
 Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu
 305 310 315 320
 Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser
 325 330 335
 Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys
 340 345 350
 Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile
 355 360 365
 Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 370 375 380
 <210> 36
 <211> 393
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_LC--GST--IFN γ _C17S
 <400> 36
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Thr Ser Gly Ser Thr Ser Gly
 210 215 220
 Thr Gly Ser Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser
 225 230 235 240
 Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu
 245 250 255
 Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys
 260 265 270
 Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu
 275 280 285
 Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr
 290 295 300
 Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His
 305 310 315 320
 Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu
 325 330 335
 Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr
 340 345 350
 Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys

355	360	365
Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile		
370	375	380
Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn		
385	390	
<210> 37		
<211> 404		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40_LC--HL2--IFNÎ ² _C17S		
<400> 37		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp		
	20	25
		30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile		
	35	40
		45
Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50	55
		60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
		80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu		
	85	90
		95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala		
	100	105
		110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
	115	120
		125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
	130	135
		140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		
145	150	155
		160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser		
	165	170
		175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr		
	180	185
		190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser		
	195	200
		205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala		

210	215	220
Lys Ala Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Met Ser		
225	230	235
Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln		
	245	250
Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp		
	260	265
Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe		
	275	280
Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile		
290	295	300
Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr		
305	310	315
Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu		
	325	330
Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly		
	340	345
Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu		
	355	360
His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val		
370	375	380
Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly		
385	390	395
		400
Tyr Leu Arg Asn		
<210> 38		
<211> 626		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--(G4S)2--IFNÎ±2a		
<400> 38		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
	20	25
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
	35	40
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
50	55	60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr																		
65					70					75								80
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys																		
					85					90								95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr																		
					100					105								110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser																		
					115					120								125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr																		
					130					135								140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro																		
145					150					155								160
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val																		
					165					170								175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser																		
					180					185								190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr																		
					195					200								205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val																		
					210					215								220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val																		
225					230					235								240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu																		
					245					250								255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser																		
					260					265								270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu																		
					275					280								285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr																		
					290					295								300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn																		
305					310					315								320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro																		
					325					330								335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln																		
					340					345								350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val																		
					355					360								365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val																		

370	375	380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
	405	410
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
	420	425
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
	435	440
Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu		
450	455	460
Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala		
465	470	475
Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp		
	485	490
Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu		
	500	505
Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe		
	515	520
Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys		
530	535	540
Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val		
545	550	555
Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser		
	565	570
Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys		
	580	585
Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile		
	595	600
Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser		
610	615	620
Lys Glu		
625		
<210> 39		
<211> 631		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--(G4S)3--IFNÎ±2a		

<400> 39

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr
 130 135 140
 Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr
 195 200 205
 Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val
 210 215 220
 Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val
 225 230 235 240
 Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
 245 250 255
 Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
 260 265 270
 His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
 275 280 285
 Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
 290 295 300

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
 305 310 315 320
 Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
 325 330 335
 Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln
 340 345 350
 Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460
 Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr
 465 470 475 480
 Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu
 485 490 495
 Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln
 500 505 510
 Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln
 515 520 525
 Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu
 530 535 540
 Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp
 545 550 555 560
 Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu
 565 570 575
 Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile
 580 585 590
 Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val
 595 600 605
 Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln

610	615	620
Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu		
625	630	
<210> 40		
<211> 636		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC-- (G4S) 4--IFNÎ±2a		
<400> 40		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
	20	25
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
	35	40
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
	50	55
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr		
	100	105
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser		
	115	120
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr		
	130	135
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
	165	170
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
	180	185
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr		
	195	200
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
	210	215
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		

225		230		235		240
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu						
		245		250		255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser						
		260		265		270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu						
		275		280		285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr						
		290		295		300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn						
305		310		315		320
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro						
		325		330		335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln						
		340		345		350
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val						
		355		360		365
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val						
		370		375		380
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro						
385		390		395		400
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr						
		405		410		415
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val						
		420		425		430
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu						
		435		440		445
Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly						
		450		455		460
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu						
465		470		475		480
Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser						
		485		490		495
Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu						
		500		505		510
Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His						
		515		520		525
Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser						
		530		535		540

Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr
545 550 555 560
Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val
565 570 575
Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys
580 585 590
Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro
595 600 605
Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu
610 615 620
Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
625 630 635
<210> 41
<211> 389
<212> PRT
<213> 人工序列
<220>
<223> 抗CD40_LC--G4S2--IFNÎ±2a
<400> 41
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
20 25 30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45
Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
85 90 95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
100 105 110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
115 120 125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
130 135 140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
145 150 155 160

Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met
 225 230 235 240
 Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp
 245 250 255
 Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln
 260 265 270
 Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe
 275 280 285
 Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu
 290 295 300
 Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu
 305 310 315 320
 Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys
 325 330 335
 Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu
 340 345 350
 Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg
 355 360 365
 Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser
 370 375 380
 Leu Arg Ser Lys Glu
 385
 <210> 42
 <211> 394
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_{LC}--G4S3--IFN \hat{I} \pm 2a
 <400> 42
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser
 225 230 235 240
 Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe
 245 250 255
 Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe
 260 265 270
 Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met
 275 280 285
 Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala
 290 295 300
 Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln
 305 310 315 320
 Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu

	325		330		335
Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe					
	340		345		350
Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala					
	355		360		365
Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr					
	370		375		380
Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu					
385		390			
<210> 43					
<211> 399					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 抗CD40_LC--G4S4--IFNÎ±2a					
<400> 43					
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly					
1	5		10		15
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp					
	20		25		30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile					
	35		40		45
Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly					
	50		55		60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro					
65		70		75	80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu					
	85		90		95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala					
	100		105		110
Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly					
	115		120		125
Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala					
	130		135		140
Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln					
145		150		155	160
Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser					
	165		170		175
Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr					

	180		185		190
Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser					
	195		200		205
Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser					
	210		215		220
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr					
225		230		235	240
His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg					
	245		250		255
Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe					
	260		265		270
Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro					
	275		280		285
Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys					
	290		295		300
Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr					
305		310		315	320
Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly					
	325		330		335
Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala					
	340		345		350
Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys					
	355		360		365
Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser					
	370		375		380
Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu					
385		390		395	
<210> 44					
<211> 395					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> IFN γ 2--G4S3--抗CD40_LC					
<400> 44					
Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln					
1	5		10		15
Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu					
	20		25		30
Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln					

35	40	45
Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln		
50	55	60
Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn		
65	70	75
Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn		
85	90	95
His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr		
100	105	110
Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg		
115	120	125
Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr		
130	135	140
Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu		
145	150	155
Thr Gly Tyr Leu Arg Asn Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser		
165	170	175
Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val		
180	185	190
Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln		
195	200	205
Gly Ile Tyr Ser Trp Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala		
210	215	220
Pro Asn Leu Leu Ile Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro		
225	230	235
Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile		
245	250	255
Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala		
260	265	270
Asn Ile Phe Pro Leu Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
275	280	285
Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu		
290	295	300
Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe		
305	310	315
Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln		
325	330	335
Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser		
340	345	350

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 355 360 365
 Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 370 375 380
 Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 385 390 395
 <210> 45
 <211> 400
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_LC--G4S4--IFNÎ²
 <400> 45
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205

Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Met Ser Tyr Asn Leu Leu
 225 230 235 240
 Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu Trp
 245 250 255
 Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe
 260 265 270
 Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp
 275 280 285
 Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe
 290 295 300
 Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn
 305 310 315 320
 Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu
 325 330 335
 Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser
 340 345 350
 Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys
 355 360 365
 Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile
 370 375 380
 Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 385 390 395 400
 <210> 46
 <211> 636
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> IFN γ ²--(G4S)3--抗CD40_HC_IgG1_NNAS_dK
 <400> 46
 Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln
 1 5 10 15
 Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu
 20 25 30
 Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln
 35 40 45
 Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln
 50 55 60

Asn	Ile	Phe	Ala	Ile	Phe	Arg	Gln	Asp	Ser	Ser	Ser	Thr	Gly	Trp	Asn	65	70	75	80
Glu	Thr	Ile	Val	Glu	Asn	Leu	Leu	Ala	Asn	Val	Tyr	His	Gln	Ile	Asn	85	90	95	
His	Leu	Lys	Thr	Val	Leu	Glu	Glu	Lys	Leu	Glu	Lys	Glu	Asp	Phe	Thr	100	105	110	
Arg	Gly	Lys	Leu	Met	Ser	Ser	Leu	His	Leu	Lys	Arg	Tyr	Tyr	Gly	Arg	115	120	125	
Ile	Leu	His	Tyr	Leu	Lys	Ala	Lys	Glu	Tyr	Ser	His	Cys	Ala	Trp	Thr	130	135	140	
Ile	Val	Arg	Val	Glu	Ile	Leu	Arg	Asn	Phe	Tyr	Phe	Ile	Asn	Arg	Leu	145	150	155	160
Thr	Gly	Tyr	Leu	Arg	Asn	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	165	170	175	
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	180	185	190	
Lys	Lys	Pro	Gly	Ala	Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	195	200	205	
Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr	Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	210	215	220	
Gly	Leu	Glu	Trp	Met	Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Asp	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	225	230	235	240
Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe	Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	245	250	255	
Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	Met	Glu	Leu	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	260	265	270	
Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Arg	Asp	Gln	Pro	Leu	Gly	Tyr	Cys	Thr	Asn	275	280	285	
Gly	Val	Cys	Ser	Tyr	Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	290	295	300	
Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	305	310	315	320
Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	325	330	335	
Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	340	345	350	
Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	355	360	365	
Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly				

<400> 47

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 130 135 140
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 195 200 205
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 210 215 220
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 225 230 235 240
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 245 250 255
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 260 265 270
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 275 280 285
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 290 295 300

Tyr Asn Asn Ala Ser Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 305 310 315 320
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 325 330 335
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 340 345 350
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 355 360 365
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 385 390 395 400
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 405 410 415
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 450 455 460
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Met Ser Tyr Asn Leu
 465 470 475 480
 Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu
 485 490 495
 Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn
 500 505 510
 Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu
 515 520 525
 Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile
 530 535 540
 Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu
 545 550 555 560
 Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val
 565 570 575
 Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met
 580 585 590
 Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu
 595 600 605
 Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu

610	615	620
Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg		
625	630	635
Asn		640
<210> 48		
<211> 456		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40抗体hIgG1重链NNAS		
<400> 48		
Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala		
1	5	10
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr		
	20	25
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met		
	35	40
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe		
	50	55
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr		
	100	105
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser		
	115	120
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr		
	130	135
Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
	165	170
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
	180	185
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile		
	195	200
Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val		
210	215	220

Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 225 230 235 240
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 245 250 255
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 260 265 270
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 275 280 285
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 290 295 300
 Tyr Asn Asn Ala Ser Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 305 310 315 320
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala
 325 330 335
 Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
 340 345 350
 Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr
 355 360 365
 Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
 370 375 380
 Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
 385 390 395 400
 Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
 405 410 415
 Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe
 420 425 430
 Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
 435 440 445
 Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys
 450 455
 <210> 49
 <211> 455
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40抗体hIgG1重链-NNAS-dK
 <400> 49
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr
 100 105 110
 Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser
 115 120 125
 Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr
 130 135 140
 Ser Gly Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro
 145 150 155 160
 Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val
 165 170 175
 His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser
 180 185 190
 Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile
 195 200 205
 Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val
 210 215 220
 Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala
 225 230 235 240
 Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro
 245 250 255
 Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val
 260 265 270
 Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val
 275 280 285
 Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln
 290 295 300
 Tyr Asn Asn Ala Ser Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln
 305 310 315 320
 Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala

	325		330		335										
Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro
	340		345		350										
Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr
	355		360		365										
Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser
	370		375		380										
Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr
385			390		395		400								
Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr
	405		410		415										
Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe
	420		425		430										
Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys
	435		440		445										
Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly									
	450		455												
<210>	50														
<211>	244														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	抗CD40抗体hIgG2 Fab区重链--TEV--6His标签														
<400>	50														
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala
1			5				10						15		
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr
	20		25		30										
Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met
	35		40		45										
Gly	Trp	Ile	Asn	Pro	Asp	Ser	Gly	Gly	Thr	Asn	Tyr	Ala	Gln	Lys	Phe
	50		55		60										
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr
65			70		75		80								
Met	Glu	Leu	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
	85		90		95										
Ala	Arg	Asp	Gln	Pro	Leu	Gly	Tyr	Cys	Thr	Asn	Gly	Val	Cys	Ser	Tyr
	100		105		110										
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser

115	120	125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe	Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr	
130	135	140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
	165	170
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
	180	185
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr		
195	200	205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
210	215	220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Glu Asn Leu Tyr Phe Gln Ser His His		
225	230	235
		240
His His His His		
<210> 51		
<211> 107		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40抗体VL域		
<400> 51		
Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly		
1	5	10
Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp		
	20	25
		30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile		
	35	40
		45
Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly		
	50	55
		60
Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro		
65	70	75
		80
Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu		
	85	90
		95
Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys		
	100	105

<210> 52

<211> 11

<212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40抗体CDRL1
 <400> 52
 Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp Leu Ala
 1 5 10
 <210> 53
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40抗体CDRL2
 <400> 53
 Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser
 1 5
 <210> 54
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40抗体CDRL3
 <400> 54
 Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu Thr
 1 5
 <210> 55
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40抗体VH域
 <400> 55
 Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe

50						55						60				
Gln	Gly	Arg	Val	Thr	Met	Thr	Arg	Asp	Thr	Ser	Ile	Ser	Thr	Ala	Tyr	
65						70						75				80
Met	Glu	Leu	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	
				85						90						95
Ala	Arg	Asp	Gln	Pro	Leu	Gly	Tyr	Cys	Thr	Asn	Gly	Val	Cys	Ser	Tyr	
			100							105						110
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser			
		115						120								125

<210> 56

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40抗体CDRH1

<400> 56

Thr Gly Tyr Tyr Met His

1 5

<210> 57

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40抗体CDRH2

<400> 57

Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe Gln

1 5 10 15

Gly

<210> 58

<211> 17

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40抗体CDRH3

<400> 58

Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr Phe Asp

1 5 10 15

Tyr

<210> 59

<211> 213
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40抗体_轻链
 <400> 59
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15
 Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Trp Ile Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys
 210
 <210> 60
 <211> 232
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 具有信号肽1的抗CD40抗体_轻链

<400> 60

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val
 20 25 30
 Ser Pro Gly Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val
 35 40 45
 Arg Ser Asn Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg
 50 55 60
 Leu Leu Ile Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg
 65 70 75 80
 Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser
 85 90 95
 Leu Gln Ser Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys
 100 105 110
 Trp Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val
 115 120 125
 Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys
 130 135 140
 Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg
 145 150 155 160
 Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn
 165 170 175
 Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser
 180 185 190
 Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys
 195 200 205
 Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr
 210 215 220
 Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 225 230

<210> 61

<211> 447

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40抗体_重链hIgG2 dK

<400> 61

305		310		315		320
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr						
		325		330		335
Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu						
		340		345		350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys						
		355		360		365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser						
		370		375		380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp						
385		390		395		400
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser						
		405		410		415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala						
		420		425		430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly						
		435		440		445
<210> 62						
<211> 466						
<212> PRT						
<213> 人工序列						
<220>						
<223> 具有信号肽1的抗CD40抗体_重链hIgG2 dK						
<400> 62						
Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly						
1		5		10		15
Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln						
		20		25		30
Pro Gly Lys Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe						
		35		40		45
Ser Ser Asn Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu						
		50		55		60
Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala						
65		70		75		80
Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn						
		85		90		95
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val						
		100		105		110
Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe						

115	120	125
Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr		
130	135	140
Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser		
145	150	155
Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu		
165	170	175
Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His		
180	185	190
Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser		
195	200	205
Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys		
210	215	220
Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu		
225	230	235
Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala		
245	250	255
Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met		
260	265	270
Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His		
275	280	285
Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val		
290	295	300
His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe		
305	310	315
Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly		
325	330	335
Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile		
340	345	350
Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val		
355	360	365
Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser		
370	375	380
Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu		
385	390	395
Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro		
405	410	415
Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val		
420	425	430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met
 435 440 445
 His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser
 450 455 460
 Pro Gly
 465
 <210> 63
 <211> 227
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40抗体Fab区重链hIgG2
 <400> 63
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205

His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
 210 215 220
 Cys Val Glu
 225
 <210> 64
 <211> 246
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 具有信号肽1的抗CD40抗体Fab区重链hIgG2
 <400> 64
 Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1 5 10 15
 Val His Ser Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln
 20 25 30
 Pro Gly Lys Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Ser Asn Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
 85 90 95
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe
 115 120 125
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr
 130 135 140
 Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser
 145 150 155 160
 Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu
 165 170 175
 Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His
 180 185 190
 Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser
 195 200 205
 Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys
 210 215 220

Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Pro
 435 440 445
 Ala Pro Ala Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn
 450 455 460
 Phe Gln Cys Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr
 465 470 475 480
 Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln
 485 490 495
 Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met
 500 505 510
 Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly
 515 520 525
 Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln
 530 535 540
 Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp

545 550 555 560
 Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr
 565 570 575
 Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala
 580 585 590
 Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn
 595 600 605
 Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 610 615
 <210> 67
 <211> 616
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--RL--IFNÎ²dM_C17S
 <400> 67
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr

	180		185		190												
Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp		
	195							200				205					
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys		
	210						215				220						
Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser		
225						230				235					240		
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg		
				245					250					255			
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro		
			260					265					270				
Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala		
	275						280				285						
Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr	Phe	Arg	Val	Val		
	290						295				300						
Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr		
305					310					315					320		
Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr		
				325					330				335				
Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu		
			340					345					350				
Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys		
	355						360					365					
Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser		
	370					375					380						
Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr	Thr	Pro	Pro	Met	Leu	Asp		
385					390						395				400		
Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser		
				405					410				415				
Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala		
			420					425					430				
Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Pro		
	435						440					445					
Ala	Pro	Ala	Ser	Tyr	Asn	Leu	Leu	Gly	Phe	Leu	Gln	Arg	Ser	Ser	Asn		
	450					455					460						
Phe	Gln	Ser	Gln	Lys	Leu	Leu	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Arg	Leu	Glu	Tyr		
465					470						475				480		
Cys	Leu	Lys	Asp	Arg	Met	Asn	Phe	Asp	Ile	Pro	Glu	Glu	Ile	Lys	Gln		
			485					490					495				

Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met
 500 505 510
 Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly
 515 520 525
 Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln
 530 535 540
 Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp
 545 550 555 560
 Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr
 565 570 575
 Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala
 580 585 590
 Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn
 595 600 605
 Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 610 615
 <210> 68
 <211> 624
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFNÎ²dM
 <400> 68
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125

Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
 210 215 220
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ala

435	440	445
Glu Ala Ala Ala Lys	Glu Ala Ala Ala Lys	Ala Ser Tyr Asn Leu Leu
450	455	460
Gly Phe Leu Gln Arg	Ser Ser Asn Phe Gln Cys	Gln Lys Leu Leu Trp
465	470	475
Gln Leu Asn Gly Arg	Leu Glu Tyr Cys Leu Lys	Asp Arg Met Asn Phe
485	490	495
Asp Ile Pro Glu Glu	Ile Lys Gln Leu Gln Gln	Phe Gln Lys Glu Asp
500	505	510
Ala Ala Leu Thr Ile	Tyr Glu Met Leu Gln Asn	Ile Phe Ala Ile Phe
515	520	525
Arg Gln Asp Ser Ser	Ser Thr Gly Trp Asn Glu	Thr Ile Val Glu Asn
530	535	540
Leu Leu Ala Asn Val	Tyr His Gln Ile Asn His	Leu Lys Thr Val Leu
545	550	555
Glu Glu Lys Leu Glu	Lys Glu Asp Phe Thr Arg	Gly Lys Leu Met Ser
565	570	575
Ser Leu His Leu Lys	Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile	Leu His Tyr Leu Lys
580	585	590
Ala Lys Glu Tyr Ser	His Cys Ala Trp Thr Ile	Val Arg Val Glu Ile
595	600	605
Leu Arg Asn Phe Tyr	Phe Ile Asn Arg Leu Thr	Gly Tyr Leu Arg Asn
610	615	620
<210> 69		
<211> 624		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFNÎ²dM_C17S		
<400> 69		
Gln Val Gln Leu Val	Glu Ser Gly Gly Gly	Val Val Gln Pro Gly Lys
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser	Cys Ala Ala Ser Gly	Phe Thr Phe Ser Ser Asn
20	25	30
Gly Ile His Trp Val	Arg Gln Ala Pro Gly	Lys Gly Leu Glu Trp Val
35	40	45
Ala Val Ile Trp Ser	Asp Gly Ser Asn Lys	Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50	55	60
Lys Gly Arg Phe Thr	Ile Ser Arg Asp Asn	Ser Lys Asn Thr Leu Tyr

65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser	Leu Arg Ala Glu Asp	Thr Ala Val Tyr Tyr	Cys
	85	90	95
Ala Arg Ala Ser Gly	Ser Gly Ser Tyr Tyr	Asn Phe Phe Asp	Tyr Trp
	100	105	110
Gly Gln Gly Thr Leu	Val Thr Val Ser Ser	Ala Ser Thr Lys	Gly Pro
	115	120	125
Ser Val Phe Pro Leu	Ala Pro Cys Ser Arg	Ser Thr Ser Glu	Ser Thr
	130	135	140
Ala Ala Leu Gly Cys	Leu Val Lys Asp Tyr	Phe Pro Glu Pro	Val Thr
145	150	155	160
Val Ser Trp Asn Ser	Gly Ala Leu Thr Ser	Gly Val His Thr	Phe Pro
	165	170	175
Ala Val Leu Gln Ser	Ser Gly Leu Tyr Ser	Leu Ser Ser Val	Val Thr
	180	185	190
Val Pro Ser Ser Asn	Phe Gly Thr Gln Thr	Tyr Thr Cys Asn	Val Asp
	195	200	205
His Lys Pro Ser Asn	Thr Lys Val Asp Lys	Thr Val Glu Arg	Lys Cys
	210	215	220
Cys Val Glu Cys Pro	Pro Cys Pro Ala Pro	Pro Val Ala Gly	Pro Ser
225	230	235	240
Val Phe Leu Phe Pro	Pro Lys Pro Lys Asp	Thr Leu Met Ile	Ser Arg
	245	250	255
Thr Pro Glu Val Thr	Cys Val Val Val Asp	Val Ser His Glu	Asp Pro
	260	265	270
Glu Val Gln Phe Asn	Trp Tyr Val Asp Gly	Val Glu Val His	Asn Ala
	275	280	285
Lys Thr Lys Pro Arg	Glu Glu Gln Phe Asn	Ser Thr Phe Arg	Val Val
	290	295	300
Ser Val Leu Thr Val	Val His Gln Asp Trp	Leu Asn Gly Lys	Glu Tyr
305	310	315	320
Lys Cys Lys Val Ser	Asn Lys Gly Leu Pro	Ala Pro Ile Glu	Lys Thr
	325	330	335
Ile Ser Lys Thr Lys	Gly Gln Pro Arg Glu	Pro Gln Val Tyr	Thr Leu
	340	345	350
Pro Pro Ser Arg Glu	Glu Met Thr Lys Asn	Gln Val Ser Leu	Thr Cys
	355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe	Tyr Pro Ser Asp Ile	Ala Val Glu Trp	Glu Ser
	370	375	380

Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ala
 435 440 445
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Ser Tyr Asn Leu Leu
 450 455 460
 Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp
 465 470 475 480
 Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe
 485 490 495
 Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp
 500 505 510
 Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe
 515 520 525
 Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn
 530 535 540
 Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu
 545 550 555 560
 Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser
 565 570 575
 Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys
 580 585 590
 Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile
 595 600 605
 Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 610 615 620
 <210> 70
 <211> 403
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_LC--HL2--IFNÎ²_C17S
 <400> 70
 Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Ser
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Trp Ile Thr
 85 90 95
 Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro
 100 105 110
 Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr
 115 120 125
 Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys
 130 135 140
 Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu
 145 150 155 160
 Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser
 165 170 175
 Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys
 210 215 220
 Ala Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Met Ser Tyr
 225 230 235 240
 Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser Gln Lys
 245 250 255
 Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg
 260 265 270
 Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln
 275 280 285
 Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe
 290 295 300
 Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile
 305 310 315 320
 Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His Leu Lys

	325		330		335
Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys					
	340		345		350
Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His					
	355		360		365
Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg					
	370		375		380
Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr					
385		390		395	400
Leu Arg Asn					
<210> 71					
<211> 394					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> 抗CD40_LC--G4S3--IFNÎ ² _C17S					
<400> 71					
Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly					
1	5		10		15
Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Arg Ser Asn					
	20		25		30
Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu Ile					
	35		40		45
Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly					
	50		55		60
Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Asn Ser Leu Gln Ser					
65		70		75	80
Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Lys Trp Ile Thr					
	85		90		95
Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro					
	100		105		110
Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr					
	115		120		125
Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys					
	130		135		140
Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu					
145		150		155	160
Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser					
	165		170		175

Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala
 180 185 190
 Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe
 195 200 205
 Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
 210 215 220
 Gly Gly Gly Ser Met Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser
 225 230 235 240
 Ser Asn Phe Gln Ser Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu
 245 250 255
 Glu Tyr Cys Leu Lys Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile
 260 265 270
 Lys Gln Leu Gln Gln Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr
 275 280 285
 Glu Met Leu Gln Asn Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser
 290 295 300
 Thr Gly Trp Asn Glu Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr
 305 310 315 320
 His Gln Ile Asn His Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys
 325 330 335
 Glu Asp Phe Thr Arg Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg
 340 345 350
 Tyr Tyr Gly Arg Ile Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His
 355 360 365
 Cys Ala Trp Thr Ile Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe
 370 375 380
 Ile Asn Arg Leu Thr Gly Tyr Leu Arg Asn
 385 390
 <210> 72
 <211> 622
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--G4S2--IFNÎ±2a
 <400> 72
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30

Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
 210 215 220
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu

340	345	350
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
355	360	365
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
405	410	415
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
420	425	430
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly		
435	440	445
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His		
450	455	460
Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys		
465	470	475
Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro		
485	490	495
Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val		
500	505	510
Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp		
515	520	525
Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu		
530	535	540
Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val		
545	550	555
Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val		
565	570	575
Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr		
580	585	590
Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe		
595	600	605
Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu		
610	615	620

<210> 73

<211> 627

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--G4S3--IFNÎ±2a

<400> 73

Gln	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Val	Val	Gln	Pro	Gly	Lys
1				5					10					15	
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Asn
			20					25					30		
Gly	Ile	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val
		35					40					45			
Ala	Val	Ile	Trp	Ser	Asp	Gly	Ser	Asn	Lys	Phe	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50				55					60				
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Leu	Tyr
65					70					75				80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
			85						90					95	
Ala	Arg	Ala	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Tyr	Tyr	Asn	Phe	Phe	Asp	Tyr	Trp
			100						105				110		
Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro
			115						120				125		
Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr	Ser	Glu	Ser	Thr
					135						140				
Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro	Val	Thr
145					150					155				160	
Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr	Phe	Pro
			165							170				175	
Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val	Val	Thr
			180						185					190	
Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr	Cys	Asn	Val	Asp
			195					200					205		
His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val	Glu	Arg	Lys	Cys
					215							220			
Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val	Ala	Gly	Pro	Ser
225					230						235			240	
Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg
			245						250					255	
Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro
			260						265				270		
Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala
			275					280					285		

Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly
 435 440 445
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Cys Asp
 450 455 460
 Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu
 465 470 475 480
 Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His
 485 490 495
 Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala
 500 505 510
 Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu
 515 520 525
 Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp
 530 535 540
 Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys
 545 550 555 560
 Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp
 565 570 575
 Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu
 580 585 590
 Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu

595	600	605
Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg		
610	615	620
Ser Lys Glu		
625		
<210> 74		
<211> 632		
<212> PRT		
<213> 人工序列		
<220>		
<223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--G4S4--IFNÎ±2a		
<400> 74		
Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys		
1	5	10
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn		
	20	25
Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val		
	35	40
Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val		
	50	55
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr		
65	70	75
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	85	90
Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe Asp Tyr Trp		
	100	105
Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro		
	115	120
Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr		
130	135	140
Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr		
145	150	155
Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro		
	165	170
Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr		
	180	185
Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp		
	195	200
His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys		

210	215	220
Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser		
225	230	235
Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg		
	245	250
Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro		
	260	265
Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala		
	275	280
Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val		
290	295	300
Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr		
305	310	315
Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr		
	325	330
Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu		
	340	345
Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys		
	355	360
Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser		
370	375	380
Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp		
385	390	395
Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser		
	405	410
Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala		
	420	425
Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Gly		
	435	440
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly		
	450	455
Gly Gly Ser Cys Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg		
465	470	475
Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys		
	485	490
Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn		
	500	505
Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln		
	515	520
		525

Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp
 530 535 540
 Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn
 545 550 555 560
 Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro
 565 570 575
 Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg
 580 585 590
 Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu
 595 600 605
 Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu
 610 615 620
 Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 625 630
 <210> 75
 <211> 624
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_hIgG2_dK_HC--HL--IFNÎ±2a
 <400> 75
 Gln Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Pro Gly Lys
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Asn
 20 25 30
 Gly Ile His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Trp Ser Asp Gly Ser Asn Lys Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Ala Ser Gly Ser Gly Ser Tyr Tyr Asn Phe Phe Asp Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 115 120 125
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr
 130 135 140

Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 145 150 155 160
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 165 170 175
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 180 185 190
 Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp
 195 200 205
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys
 210 215 220
 Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser
 225 230 235 240
 Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg
 245 250 255
 Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro
 260 265 270
 Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala
 275 280 285
 Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val
 290 295 300
 Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr
 305 310 315 320
 Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr
 325 330 335
 Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu
 340 345 350
 Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys
 355 360 365
 Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser
 370 375 380
 Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp
 385 390 395 400
 Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser
 405 410 415
 Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala
 420 425 430
 Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ala
 435 440 445
 Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Cys Asp Leu Pro Gln

450	455	460																	
Thr	His	Ser	Leu	Gly	Ser	Arg	Arg	Thr	Leu	Met	Leu	Leu	Ala	Gln	Met				
465	470	475	480																
Arg	Lys	Ile	Ser	Leu	Phe	Ser	Cys	Leu	Lys	Asp	Arg	His	Asp	Phe	Gly				
	485	490	495																
Phe	Pro	Gln	Glu	Glu	Phe	Gly	Asn	Gln	Phe	Gln	Lys	Ala	Glu	Thr	Ile				
	500	505	510																
Pro	Val	Leu	His	Glu	Met	Ile	Gln	Gln	Ile	Phe	Asn	Leu	Phe	Ser	Thr				
	515	520	525																
Lys	Asp	Ser	Ser	Ala	Ala	Trp	Asp	Glu	Thr	Leu	Leu	Asp	Lys	Phe	Tyr				
530	535	540																	
Thr	Glu	Leu	Tyr	Gln	Gln	Leu	Asn	Asp	Leu	Glu	Ala	Cys	Val	Ile	Gln				
545	550	555	560																
Gly	Val	Gly	Val	Thr	Glu	Thr	Pro	Leu	Met	Lys	Glu	Asp	Ser	Ile	Leu				
	565	570	575																
Ala	Val	Arg	Lys	Tyr	Phe	Gln	Arg	Ile	Thr	Leu	Tyr	Leu	Lys	Glu	Lys				
	580	585	590																
Lys	Tyr	Ser	Pro	Cys	Ala	Trp	Glu	Val	Val	Arg	Ala	Glu	Ile	Met	Arg				
595	600	605																	
Ser	Phe	Ser	Leu	Ser	Thr	Asn	Leu	Gln	Glu	Ser	Leu	Arg	Ser	Lys	Glu				
610	615	620																	
<210>	76																		
<211>	165																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			
<223>	IFN β dM																		
<400>	76																		
Ser	Tyr	Asn	Leu	Leu	Gly	Phe	Leu	Gln	Arg	Ser	Ser	Asn	Phe	Gln	Cys				
1	5	10	15																
Gln	Lys	Leu	Leu	Trp	Gln	Leu	Asn	Gly	Arg	Leu	Glu	Tyr	Cys	Leu	Lys				
	20	25	30																
Asp	Arg	Met	Asn	Phe	Asp	Ile	Pro	Glu	Glu	Ile	Lys	Gln	Leu	Gln	Gln				
	35	40	45																
Phe	Gln	Lys	Glu	Asp	Ala	Ala	Leu	Thr	Ile	Tyr	Glu	Met	Leu	Gln	Asn				
	50	55	60																
Ile	Phe	Ala	Ile	Phe	Arg	Gln	Asp	Ser	Ser	Ser	Thr	Gly	Trp	Asn	Glu				
65	70	75	80																
Thr	Ile	Val	Glu	Asn	Leu	Leu	Ala	Asn	Val	Tyr	His	Gln	Ile	Asn	His				

	85	90	95
Leu Lys Thr Val	Leu Glu Glu Lys	Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg	
	100	105	110
Gly Lys Leu Met Ser Ser	Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile		
	115	120	125
Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile			
	130	135	140
Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr			
	145	150	155
Gly Tyr Leu Arg Asn			
	165		
<210> 77			
<211> 165			
<212> PRT			
<213> 人工序列			
<220>			
<223> IFN β dM C17S			
<400> 77			
Ser Tyr Asn Leu Leu Gly Phe Leu Gln Arg Ser Ser Asn Phe Gln Ser			
1	5	10	15
Gln Lys Leu Leu Trp Gln Leu Asn Gly Arg Leu Glu Tyr Cys Leu Lys			
	20	25	30
Asp Arg Met Asn Phe Asp Ile Pro Glu Glu Ile Lys Gln Leu Gln Gln			
	35	40	45
Phe Gln Lys Glu Asp Ala Ala Leu Thr Ile Tyr Glu Met Leu Gln Asn			
	50	55	60
Ile Phe Ala Ile Phe Arg Gln Asp Ser Ser Ser Thr Gly Trp Asn Glu			
65	70	75	80
Thr Ile Val Glu Asn Leu Leu Ala Asn Val Tyr His Gln Ile Asn His			
	85	90	95
Leu Lys Thr Val Leu Glu Glu Lys Leu Glu Lys Glu Asp Phe Thr Arg			
	100	105	110
Gly Lys Leu Met Ser Ser Leu His Leu Lys Arg Tyr Tyr Gly Arg Ile			
	115	120	125
Leu His Tyr Leu Lys Ala Lys Glu Tyr Ser His Cys Ala Trp Thr Ile			
	130	135	140
Val Arg Val Glu Ile Leu Arg Asn Phe Tyr Phe Ile Asn Arg Leu Thr			
	145	150	155
Gly Tyr Leu Arg Asn			

165

<210> 78

<211> 1947

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 编码SEQ ID NO 32的核酸

<400> 78

```

atgggctggg cctgcatcat tctgtttctg gtggccacag ccacaggcgt gcactctcag 60
gttcaactgg ttcagtctgg cgccgaagtg aagaaaccag gcgccagcgt gaaggtgtcc 120
tgtaaagcca gcggtacac ctttaccggc tactacatgc actgggtccg acaggctcca 180
ggacagggac ttgagtggat gggttgatc aatcctgaca gcggcgccac caactacgcc 240
cagaaattcc agggcagagt gaccatgacc agagacacca gcacacacac cgcctacatg 300
gaactgaacc ggctgagatc cgacgacacc gccgtgtact attgcgccag agatcagcct 360
ctgggctact gcacaaatgg cgtgtgcagc tacttcgact actggggcca gggcacactg 420
gttacagtgt ctagcgcctc taaaaagggc ccctccgttt ttctctggc tccttgttct 480
agaagcacca gcgagtctac agccgctctg ggctgtctgg tcaaggacta ctttctctgag 540
cctgtgaccg tgcctggaa tagcggagca ctgacatccg gcgtgcacac atttccagct 600
gtgctgcaga gcagcggcct gtactctctg tctagcgtgg tcaccgtgcc tagcagcaat 660
ttcggcacc agacctacac ctgtaacgtg gaccacaagc ctagcaacac caaggtggac 720
aagaccgtgg aacggaagtg ctgcgtggaa tgccctcett gtctgtctcc tccagtggcc 780
ggaccttccg tgtttctgtt ccctccaaag cctaaggaca ccctgatgat cagcagaacc 840
cctgaagtga cctgcgtggg ggtggatgtg tctcacgagg atcccagggt gcagttcaat 900
tggtacgtgg acggcgtgga agtgacacac gccaaagaca agcctagaga ggaacagttc 960
aacagcacct tcagagtggg gtccgtgctg accgtggtgc atcaggactg gctgaacggc 1020
aaagagtaca agtgcaaggt gtccaacaag ggctgcctg ctctatcga gaaaaccatc 1080
agcaagacca aaggccagcc tcgcgagcct caggtttaca cactgcctcc aagccgggaa 1140
gagatgacca agaatcaggt gtccctgacc tgctctgta agggcttcta cccttccgat 1200
atcggcgtgg aatgggagag caatggccag cctgagaaca actacaagac cacacctcct 1260
atgctggaca gcgacggctc attcttctg tacagcaagc tgacagtgga caagtccaga 1320
tggcagcagg gcaacgtgtt cagctgttct gtgatgcacg aggccctgca caaccactac 1380
accagaagt ctctgtctct gagccctggc gctgaagccg ctgctaaaga agctgccgcc 1440
aaggccatga gctacaacct gctgggcttt ctgcagcgga gcagcaactt ccagtgccag 1500
aaactgctgt ggcagctgaa tggccggtg gaactactgc tgaaggaccg gatgaacttc 1560
gacatccccg aggaaatcaa gcagctgcag cagttccaga aagaggacgc cgctctgacc 1620
atctacgaga tgctgcagaa catcttcgcc atcttcggc aggatagcag cagcaccgga 1680
tggaacgaga caatcgtgga aaatctgctg gccaacgtgt accaccagat caaccacctg 1740
aaaaccgtgc tggaagagaa gctggaaaaa gaggacttca cccggggcaa gctgatgagc 1800
agcctgcacc tgaagcggta ctacggcaga atcctgcact acctcaaggc caaagagtat 1860

```

agccactgcg cctggaccat cgtgcgctg gaaatcctgc ggaacttcta cttcatcaac 1920

agactgaccg gctacctgcg caactga 1947

<210> 79

<211> 174

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IFN ω

<400> 79

Leu Gly Cys Asp Leu Pro Gln Asn His Gly Leu Leu Ser Arg Asn Thr

1 5 10 15

Leu Val Leu Leu His Gln Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Leu Cys Leu

20 25 30

Lys Asp Arg Arg Asp Phe Arg Phe Pro Gln Glu Met Val Lys Gly Ser

35 40 45

Gln Leu Gln Lys Ala His Val Met Ser Val Leu His Glu Met Leu Gln

50 55 60

Gln Ile Phe Ser Leu Phe His Thr Glu Arg Ser Ser Ala Ala Trp Asn

65 70 75 80

Met Thr Leu Leu Asp Gln Leu His Thr Gly Leu His Gln Gln Leu Gln

85 90 95

His Leu Glu Thr Cys Leu Leu Gln Val Val Gly Glu Gly Glu Ser Ala

100 105 110

Gly Ala Ile Ser Ser Pro Ala Leu Thr Leu Arg Arg Tyr Phe Gln Gly

115 120 125

Ile Arg Val Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Asp Cys Ala Trp Glu

130 135 140

Val Val Arg Met Glu Ile Met Lys Ser Leu Phe Leu Ser Thr Asn Met

145 150 155 160

Gln Glu Arg Leu Arg Ser Lys Asp Arg Asp Leu Gly Ser Ser

165 170

<210> 80

<211> 187

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> IFN ϵ

<400> 80

Leu Asp Leu Lys Leu Ile Ile Phe Gln Gln Arg Gln Val Asn Gln Glu

1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Leu Asn Lys Leu Gln Thr Leu Ser Ile Gln Gln Cys
 20 25 30
 Leu Pro His Arg Lys Asn Phe Leu Leu Pro Gln Lys Ser Leu Ser Pro
 35 40 45
 Gln Gln Tyr Gln Lys Gly His Thr Leu Ala Ile Leu His Glu Met Leu
 50 55 60
 Gln Gln Ile Phe Ser Leu Phe Arg Ala Asn Ile Ser Leu Asp Gly Trp
 65 70 75 80
 Glu Glu Asn His Thr Glu Lys Phe Leu Ile Gln Leu His Gln Gln Leu
 85 90 95
 Glu Tyr Leu Glu Ala Leu Met Gly Leu Glu Ala Glu Lys Leu Ser Gly
 100 105 110
 Thr Leu Gly Ser Asp Asn Leu Arg Leu Gln Val Lys Met Tyr Phe Arg
 115 120 125
 Arg Ile His Asp Tyr Leu Glu Asn Gln Asp Tyr Ser Thr Cys Ala Trp
 130 135 140
 Ala Ile Val Gln Val Glu Ile Ser Arg Cys Leu Phe Phe Val Phe Ser
 145 150 155 160
 Leu Thr Glu Lys Leu Ser Lys Gln Gly Arg Pro Leu Asn Asp Met Lys
 165 170 175
 Gln Glu Leu Thr Thr Glu Phe Arg Ser Pro Arg
 180 185

<210> 81

<211> 628

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40_hIgG2 dK_HC--HL--IFN α 2A

<400> 81

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr
 20 25 30
 Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr

65		70		75		80											
Met	Glu	Leu	Asn	Arg	Leu	Arg	Ser	Asp	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys		
					85				90					95			
Ala	Arg	Asp	Gln	Pro	Leu	Gly	Tyr	Cys	Thr	Asn	Gly	Val	Cys	Ser	Tyr		
					100				105					110			
Phe	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser		
					115				120					125			
Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Cys	Ser	Arg	Ser	Thr		
					130				135					140			
Ser	Glu	Ser	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro		
145					150				155					160			
Glu	Pro	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val		
					165				170					175			
His	Thr	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser		
					180				185					190			
Ser	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Asn	Phe	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Thr		
					195				200					205			
Cys	Asn	Val	Asp	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Thr	Val		
					210				215					220			
Glu	Arg	Lys	Cys	Cys	Val	Glu	Cys	Pro	Pro	Cys	Pro	Ala	Pro	Pro	Val		
225					230				235					240			
Ala	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Leu	Phe	Pro	Pro	Lys	Pro	Lys	Asp	Thr	Leu		
					245				250					255			
Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp	Val	Ser		
					260				265					270			
His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Gln	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly	Val	Glu		
					275				280					285			
Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Phe	Asn	Ser	Thr		
					290				295					300			
Phe	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Val	His	Gln	Asp	Trp	Leu	Asn		
305					310				315					320			
Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Gly	Leu	Pro	Ala	Pro		
					325				330					335			
Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Thr	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu	Pro	Gln		
					340				345					350			
Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Glu	Glu	Met	Thr	Lys	Asn	Gln	Val		
					355				360					365			
Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile	Ala	Val		
					370				375					380			

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Ala Glu Ala Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Cys
 450 455 460
 Asp Leu Pro Gln Thr His Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu
 465 470 475 480
 Leu Ala Gln Met Arg Lys Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg
 485 490 495
 His Asp Phe Gly Phe Pro Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys
 500 505 510
 Ala Glu Thr Ile Pro Val Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn
 515 520 525
 Leu Phe Ser Thr Lys Asp Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu
 530 535 540
 Asp Lys Phe Tyr Thr Glu Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala
 545 550 555 560
 Cys Val Ile Gln Gly Val Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu
 565 570 575
 Asp Ser Ile Leu Ala Val Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr
 580 585 590
 Leu Lys Glu Lys Lys Tyr Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala
 595 600 605
 Glu Ile Met Arg Ser Phe Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu
 610 615 620
 Arg Ser Lys Glu
 625
 <210> 82
 <211> 398
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_LC-衍生物--HL--IFN α 2A
 <400> 82

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Ala Glu Ala
 210 215 220
 Ala Ala Lys Glu Ala Ala Ala Lys Ala Cys Asp Leu Pro Gln Thr His
 225 230 235 240
 Ser Leu Gly Ser Arg Arg Thr Leu Met Leu Leu Ala Gln Met Arg Lys
 245 250 255
 Ile Ser Leu Phe Ser Cys Leu Lys Asp Arg His Asp Phe Gly Phe Pro
 260 265 270
 Gln Glu Glu Phe Gly Asn Gln Phe Gln Lys Ala Glu Thr Ile Pro Val
 275 280 285
 Leu His Glu Met Ile Gln Gln Ile Phe Asn Leu Phe Ser Thr Lys Asp
 290 295 300
 Ser Ser Ala Ala Trp Asp Glu Thr Leu Leu Asp Lys Phe Tyr Thr Glu

305 310 315 320
 Leu Tyr Gln Gln Leu Asn Asp Leu Glu Ala Cys Val Ile Gln Gly Val
 325 330 335
 Gly Val Thr Glu Thr Pro Leu Met Lys Glu Asp Ser Ile Leu Ala Val
 340 345 350
 Arg Lys Tyr Phe Gln Arg Ile Thr Leu Tyr Leu Lys Glu Lys Lys Tyr
 355 360 365
 Ser Pro Cys Ala Trp Glu Val Val Arg Ala Glu Ile Met Arg Ser Phe
 370 375 380
 Ser Leu Ser Thr Asn Leu Gln Glu Ser Leu Arg Ser Lys Glu
 385 390 395
 <210> 83
 <211> 377
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>
 <223> 抗CD40_LC-- (G4S) 4--IFN γ
 <400> 83
 Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45
 Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser

	165		170		175														
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr				
				180				185						190					
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser				
				195				200						205					
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser				
				210				215						220					
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gln	Asp	Pro	Tyr	Val	Lys				
				225				230						235					240
Glu	Ala	Glu	Asn	Leu	Lys	Lys	Tyr	Phe	Asn	Ala	Gly	His	Ser	Asp	Val				
				245				250						255					
Ala	Asp	Asn	Gly	Thr	Leu	Phe	Leu	Gly	Ile	Leu	Lys	Asn	Trp	Lys	Glu				
				260				265						270					
Glu	Ser	Asp	Arg	Lys	Ile	Met	Gln	Ser	Gln	Ile	Val	Ser	Phe	Tyr	Phe				
				275				280						285					
Lys	Leu	Phe	Lys	Asn	Phe	Lys	Asp	Asp	Gln	Ser	Ile	Gln	Lys	Ser	Val				
				290				295						300					
Glu	Thr	Ile	Lys	Glu	Asp	Met	Asn	Val	Lys	Phe	Phe	Asn	Ser	Asn	Lys				
				305				310						315					320
Lys	Lys	Arg	Asp	Asp	Phe	Glu	Lys	Leu	Thr	Asn	Tyr	Ser	Val	Thr	Asp				
				325				330						335					
Leu	Asn	Val	Gln	Arg	Lys	Ala	Ile	His	Glu	Leu	Ile	Gln	Val	Met	Ala				
				340				345						350					
Glu	Leu	Ser	Pro	Ala	Ala	Lys	Thr	Gly	Lys	Arg	Lys	Arg	Ser	Gln	Met				
				355				360						365					
Leu	Phe	Arg	Gly	Arg	Arg	Ala	Ser	Gln											
				370				375											
<210>	84																		
<211>	614																		
<212>	PRT																		
<213>	人工序列																		
<220>																			
<223>	抗CD40_hIgG2 dK_HC-- (G4S) 4--IFN γ																		
<400>	84																		
Gln	Val	Gln	Leu	Val	Gln	Ser	Gly	Ala	Glu	Val	Lys	Lys	Pro	Gly	Ala				
				5				10					15						
Ser	Val	Lys	Val	Ser	Cys	Lys	Ala	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Gly	Tyr				
				20				25					30						
Tyr	Met	His	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Gln	Gly	Leu	Glu	Trp	Met				

35	40	45
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser	Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe	
50	55	60
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr		
65	70	75
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
85	90	95
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr		
100	105	110
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser		
115	120	125
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr		
130	135	140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
165	170	175
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
180	185	190
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr		
195	200	205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
210	215	220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		
225	230	235
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
245	250	255
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
260	265	270
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
275	280	285
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
290	295	300
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro		
325	330	335
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
340	345	350

Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val
 355 360 365
 Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val
 370 375 380
 Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro
 385 390 395 400
 Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr
 405 410 415
 Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val
 420 425 430
 Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu
 435 440 445
 Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gln Asp Pro Tyr Val Lys Glu Ala Glu
 465 470 475 480
 Asn Leu Lys Lys Tyr Phe Asn Ala Gly His Ser Asp Val Ala Asp Asn
 485 490 495
 Gly Thr Leu Phe Leu Gly Ile Leu Lys Asn Trp Lys Glu Glu Ser Asp
 500 505 510
 Arg Lys Ile Met Gln Ser Gln Ile Val Ser Phe Tyr Phe Lys Leu Phe
 515 520 525
 Lys Asn Phe Lys Asp Asp Gln Ser Ile Gln Lys Ser Val Glu Thr Ile
 530 535 540
 Lys Glu Asp Met Asn Val Lys Phe Phe Asn Ser Asn Lys Lys Lys Arg
 545 550 555 560
 Asp Asp Phe Glu Lys Leu Thr Asn Tyr Ser Val Thr Asp Leu Asn Val
 565 570 575
 Gln Arg Lys Ala Ile His Glu Leu Ile Gln Val Met Ala Glu Leu Ser
 580 585 590
 Pro Ala Ala Lys Thr Gly Lys Arg Lys Arg Ser Gln Met Leu Phe Arg
 595 600 605
 Gly Arg Arg Ala Ser Gln
 610
 <210> 85
 <211> 409
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <220>

<223> 抗CD40_LC-- (G4S) 4--IFN λ 2

<400> 85

Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly
1				5					10					15	
Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Arg	Ala	Ser	Gln	Gly	Ile	Tyr	Ser	Trp
			20					25						30	
Leu	Ala	Trp	Tyr	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Asn	Leu	Leu	Ile
			35				40					45			
Tyr	Thr	Ala	Ser	Thr	Leu	Gln	Ser	Gly	Val	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly
			50			55					60				
Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Asp	Phe	Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro
65					70					75				80	
Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	Cys	Gln	Gln	Ala	Asn	Ile	Phe	Pro	Leu
				85					90					95	
Thr	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Lys	Val	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala
				100					105					110	
Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly
			115					120						125	
Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala
			130				135						140		
Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln
145					150					155				160	
Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser
				165					170					175	
Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr
			180					185						190	
Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser
			195				200						205		
Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
			210				215						220		
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Val	Pro	Val	Ala	Arg	Leu
225					230					235				240	
His	Gly	Ala	Leu	Pro	Asp	Ala	Arg	Gly	Cys	His	Ile	Ala	Gln	Phe	Lys
				245					250					255	
Ser	Leu	Ser	Pro	Gln	Glu	Leu	Gln	Ala	Phe	Lys	Arg	Ala	Lys	Asp	Ala
			260					265						270	
Leu	Glu	Glu	Ser	Leu	Leu	Leu	Lys	Asp	Cys	Arg	Cys	His	Ser	Arg	Leu
			275				280						285		
Phe	Pro	Arg	Thr	Trp	Asp	Leu	Arg	Gln	Leu	Gln	Val	Arg	Glu	Arg	Pro

290	295	300		
Met Ala Leu Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala				
305	310	315	320	
Thr Ala Asp Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu				
	325	330	335	
His Thr Leu His His Ile Leu Ser Gln Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro				
	340	345	350	
Gln Pro Thr Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu				
	355	360	365	
Tyr Arg Leu Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu				
370	375	380		
Ala Ser Val Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn				
385	390	395	400	
Cys Val Ala Ser Gly Asp Leu Cys Val				
	405			

<210> 86

<211> 646

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40_hIgG2 dK_HC--(G4S)4--IFNλ2

<400> 86

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala				
1	5	10	15	
Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Gly Tyr				
	20	25	30	
Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met				
	35	40	45	
Gly Trp Ile Asn Pro Asp Ser Gly Gly Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe				
50	55	60		
Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Ile Ser Thr Ala Tyr				
65	70	75	80	
Met Glu Leu Asn Arg Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys				
	85	90	95	
Ala Arg Asp Gln Pro Leu Gly Tyr Cys Thr Asn Gly Val Cys Ser Tyr				
	100	105	110	
Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser				
	115	120	125	
Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr				

130	135	140
Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro		
145	150	155
Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val		
	165	170
His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser		
	180	185
Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr		
	195	200
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
	210	220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		
225	230	235
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
	245	250
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
	260	265
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
	275	280
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
	290	295
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro		
	325	330
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
	340	345
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
	355	360
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
	370	375
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
	405	410
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
	420	425
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
	435	440
		445

Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 450 455 460
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Val Pro Val Ala Arg Leu His Gly Ala
 465 470 475 480
 Leu Pro Asp Ala Arg Gly Cys His Ile Ala Gln Phe Lys Ser Leu Ser
 485 490 495
 Pro Gln Glu Leu Gln Ala Phe Lys Arg Ala Lys Asp Ala Leu Glu Glu
 500 505 510
 Ser Leu Leu Leu Lys Asp Cys Arg Cys His Ser Arg Leu Phe Pro Arg
 515 520 525
 Thr Trp Asp Leu Arg Gln Leu Gln Val Arg Glu Arg Pro Met Ala Leu
 530 535 540
 Glu Ala Glu Leu Ala Leu Thr Leu Lys Val Leu Glu Ala Thr Ala Asp
 545 550 555 560
 Thr Asp Pro Ala Leu Val Asp Val Leu Asp Gln Pro Leu His Thr Leu
 565 570 575
 His His Ile Leu Ser Gln Phe Arg Ala Cys Ile Gln Pro Gln Pro Thr
 580 585 590
 Ala Gly Pro Arg Thr Arg Gly Arg Leu His His Trp Leu Tyr Arg Leu
 595 600 605
 Gln Glu Ala Pro Lys Lys Glu Ser Pro Gly Cys Leu Glu Ala Ser Val
 610 615 620
 Thr Phe Asn Leu Phe Arg Leu Leu Thr Arg Asp Leu Asn Cys Val Ala
 625 630 635 640
 Ser Gly Asp Leu Cys Val
 645

<210> 87

<211> 408

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 抗CD40_LC-- (G4S) 4--IFN ω

<400> 87

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15
 Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Tyr Ser Trp
 20 25 30
 Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Thr Ala Ser Thr Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80
 Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ile Phe Pro Leu
 85 90 95
 Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala
 100 105 110
 Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
 115 120 125
 Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
 130 135 140
 Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
 145 150 155 160
 Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
 165 170 175
 Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
 180 185 190
 Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
 195 200 205
 Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 210 215 220
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Gly Cys Asp Leu Pro
 225 230 235 240
 Gln Asn His Gly Leu Leu Ser Arg Asn Thr Leu Val Leu Leu His Gln
 245 250 255
 Met Arg Arg Ile Ser Pro Phe Leu Cys Leu Lys Asp Arg Arg Asp Phe
 260 265 270
 Arg Phe Pro Gln Glu Met Val Lys Gly Ser Gln Leu Gln Lys Ala His
 275 280 285
 Val Met Ser Val Leu His Glu Met Leu Gln Gln Ile Phe Ser Leu Phe
 290 295 300
 His Thr Glu Arg Ser Ser Ala Ala Trp Asn Met Thr Leu Leu Asp Gln
 305 310 315 320
 Leu His Thr Gly Leu His Gln Gln Leu Gln His Leu Glu Thr Cys Leu
 325 330 335
 Leu Gln Val Val Gly Glu Gly Glu Ser Ala Gly Ala Ile Ser Ser Pro
 340 345 350
 Ala Leu Thr Leu Arg Arg Tyr Phe Gln Gly Ile Arg Val Tyr Leu Lys

195	200	205
Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val		
210	215	220
Glu Arg Lys Cys Cys Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val		
225	230	235
Ala Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu		
	245	250
Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser		
	260	265
His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu		
	275	280
Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr		
	290	295
Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn		
305	310	315
Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro		
	325	330
Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln		
	340	345
Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val		
	355	360
Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val		
	370	375
Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro		
385	390	395
Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr		
	405	410
Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val		
	420	425
Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu		
	435	440
Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly		
	450	455
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Leu Asp Leu Lys Leu Ile Ile Phe Gln		
465	470	475
Gln Arg Gln Val Asn Gln Glu Ser Leu Lys Leu Leu Asn Lys Leu Gln		
	485	490
Thr Leu Ser Ile Gln Gln Cys Leu Pro His Arg Lys Asn Phe Leu Leu		
	500	505
		510

Pro Gln Lys Ser Leu Ser Pro Gln Gln Tyr Gln Lys Gly His Thr Leu
 515 520 525
 Ala Ile Leu His Glu Met Leu Gln Gln Ile Phe Ser Leu Phe Arg Ala
 530 535 540
 Asn Ile Ser Leu Asp Gly Trp Glu Glu Asn His Thr Glu Lys Phe Leu
 545 550 555 560
 Ile Gln Leu His Gln Gln Leu Glu Tyr Leu Glu Ala Leu Met Gly Leu
 565 570 575
 Glu Ala Glu Lys Leu Ser Gly Thr Leu Gly Ser Asp Asn Leu Arg Leu
 580 585 590
 Gln Val Lys Met Tyr Phe Arg Arg Ile His Asp Tyr Leu Glu Asn Gln
 595 600 605
 Asp Tyr Ser Thr Cys Ala Trp Ala Ile Val Gln Val Glu Ile Ser Arg
 610 615 620
 Cys Leu Phe Phe Val Phe Ser Leu Thr Glu Lys Leu Ser Lys Gln Gly
 625 630 635 640
 Arg Pro Leu Asn Asp Met Lys Gln Glu Leu Thr Thr Glu Phe Arg Ser
 645 650 655
 Pro Arg

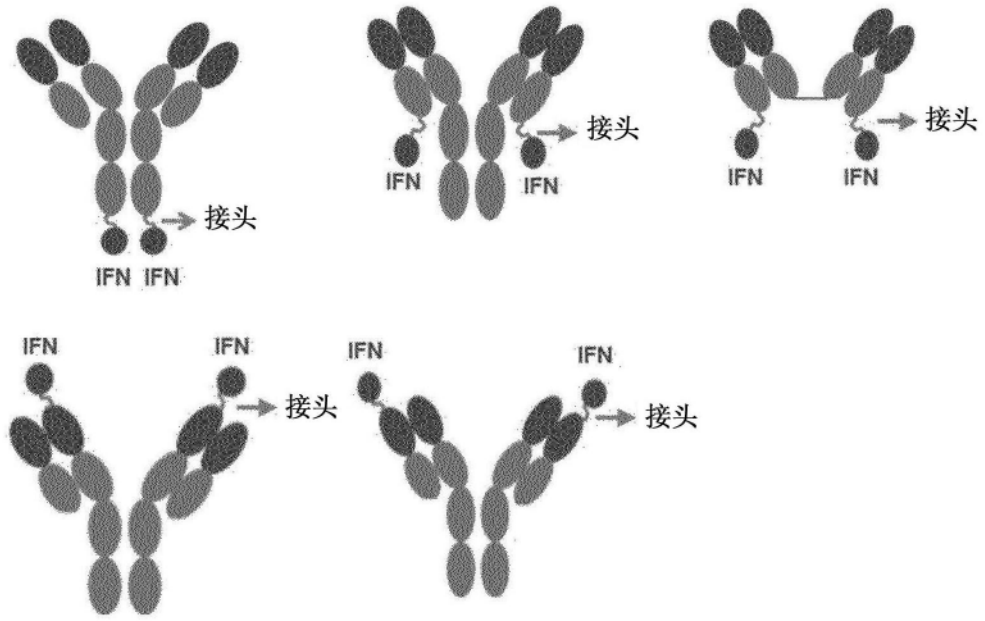
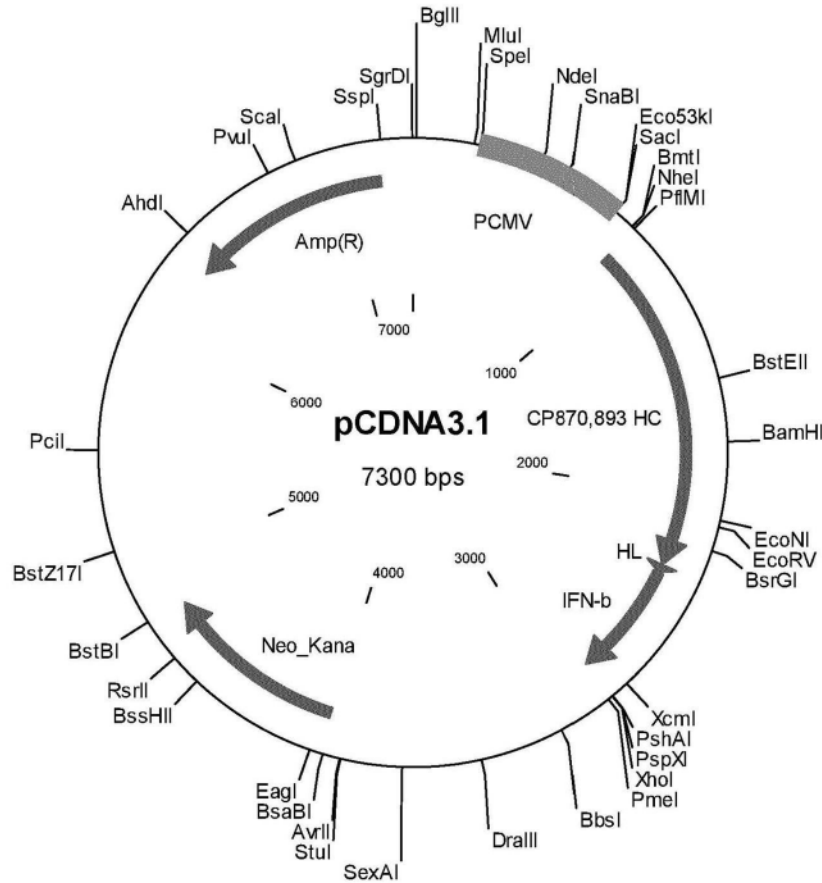


图1



编码 seq ID NO 32 的核酸序列

ATGGGCTGGTCTGCATCATTCTGTTTCTGGTGGCCACAGCCACAGGCGTGCACCTCTCAGGTTCAACTGGTTTCAGTCTGGCGCCGA
 AGTGAAGAAACCAGGCGCCAGCGTGAAGGTGTCCTGTAAAGCCAGCGGCTACACCTTTACCGGCTACTACATGCACCTGGGTCGG
 ACAGGCTCCAGGACAGGGACTTGAGTGGATGGGCTGGATCAATCCTGACAGCGGCGGCACCAACTACGCCAGAAATTCAGG
 GCAGAGTGACCATGACCAGAGACACCAGCATCAGCACCGCCTACATGGAAGTGAACCGGCTGAGATCCGACGACACCGCGGTGT
 ACTATTGCGCCAGAGATCAGCCTCTGGGCTACTGCACAAATGGCGTGTGCAGCTACTCGACTACTGGGCCCAGGGCACACTGG
 TTACAGTGTCTAGCGCCTCTACAAAGGGCCCCCTCCGTTTTCTCTGGCTCCTTGTTCAGAACACCGAGCTACAGCCGCTC
 TGGGCTGTCTGGTCAAGGACTACTTTCTGAGCCTGTGACCGTGTCTGGAATAGCGGAGCACTGACATCCGCGCTGCACACATT
 TCCAGCTGTGCTGCAGAGCAGCGGCTGTACTCTCTGTCTAGCGTGGTACCCTGCCTAGCAGCAATTCGGCACCCAGACCTAC
 ACCTGTAACGTGGACCACAAGCCTAGCAACACCAAGGTGGACAAGACCGTGAACGGAAGTGTGCGTGGAAATGCCCTCCTTGT
 CCTGCTCCTCAGTGGCCGACCTCCGTGTTTCTGTTCCCTCAAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCAGCAGAACCCTGAAGT
 GACCTGCGTGGTGGTGGATGTGTCTCACGAGGATCCGAGGTGCAGTTCAATTGGTACGTGGACGGCGTGAAGTGCACAACG
 CCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAACAGTTCAACAGCACCTTCAGAGTGGTGTCCGTGCTGACCTGGTGCATCAGGACTGGCTGA
 ACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGGCCTGCTGCTCTATCGAGAAAACCATCAGCAAGACCAAGGCCAGC
 CTGCGAGCCTCAGGTTTACACACTGCCTCCAAGCCGGGAAGAGATGACCAAGAATCAGGTGTCCCTGACCTGCCTCGTGAAGG
 GCTTCTACCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAATAAGACCACACCTCTATGCTGGA
 CAGCGACGGCTCATTCTTCTGTACAGCAAGCTGACAGTGGACAAGTCCAGATGGCAGCAGGGCAACGTGTTTCAGCTGTTCTGT
 GATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTCTCTGTCTCTGAGCCCTGGCGCTGAAGCCGCTGCTAAAGAAGCTGCC
GCCAAGGCCATGAGCTACAACCTGCTGGGCTTTCTGCAGCGGAGCAGCAACTCCAGTGCCAGAAACTGCTGTGGCAGCTGAA
TGGCCGGCTGGAATACTGCCTGAAGGACCGGATGAACTTCGACATCCCCGAGGAAATCAAGCAGCTGCAGCAGTTCAGAAA
GAGGACGCCGCTGACCATCTACGAGATGCTGCAGAACATCTTCGCCATCTTCGGCAGGATAGCAGCAGCACCAGGATGGAA
CGAGACAATCGTGAAAATCTGCTGGCCAACGTGTACCACAGATCAACCACCTGAAAACCGTGTGGAAGAGAAGCTGGAA
AAAGAGGACTTCACCCGGGCAAGCTGATGAGCAGCCTGCACCTGAAGCGGTAACCGGCAGAATCCTGCACTACCTCAAGG
CCAAAGAGTATAGCCACTGCGCCTGGACCATCGTGCGGTGGAAATCTGCGGAACTTCTACTTCATCAACAGACTGACCGGT
ACCTGCGCAACTGA

图2A

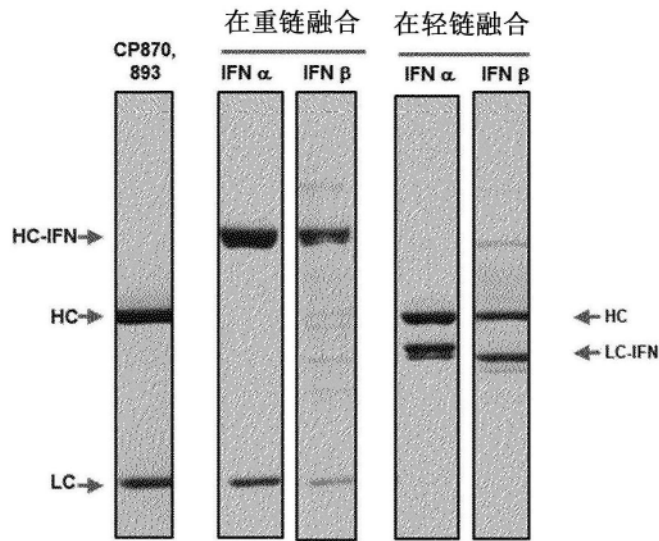


图2B

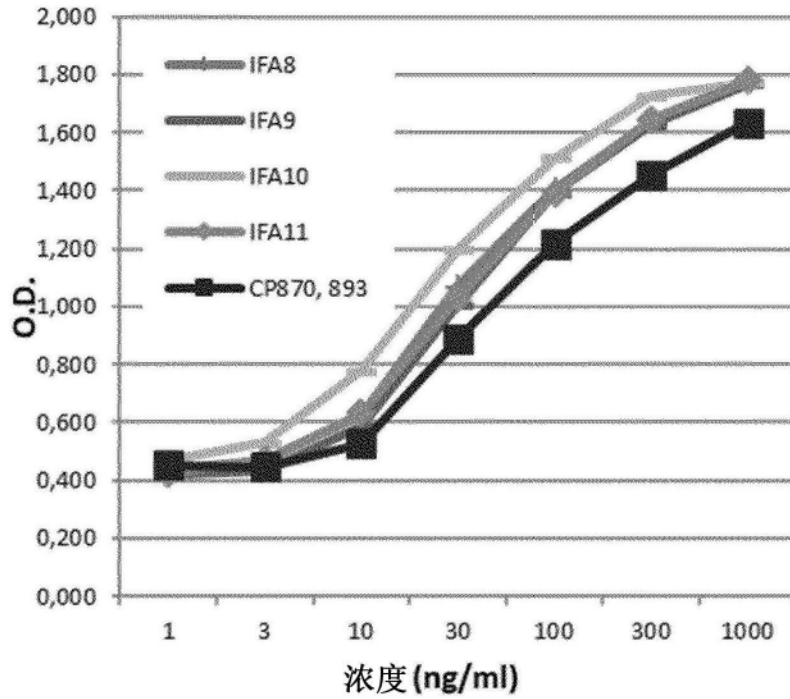


图3A

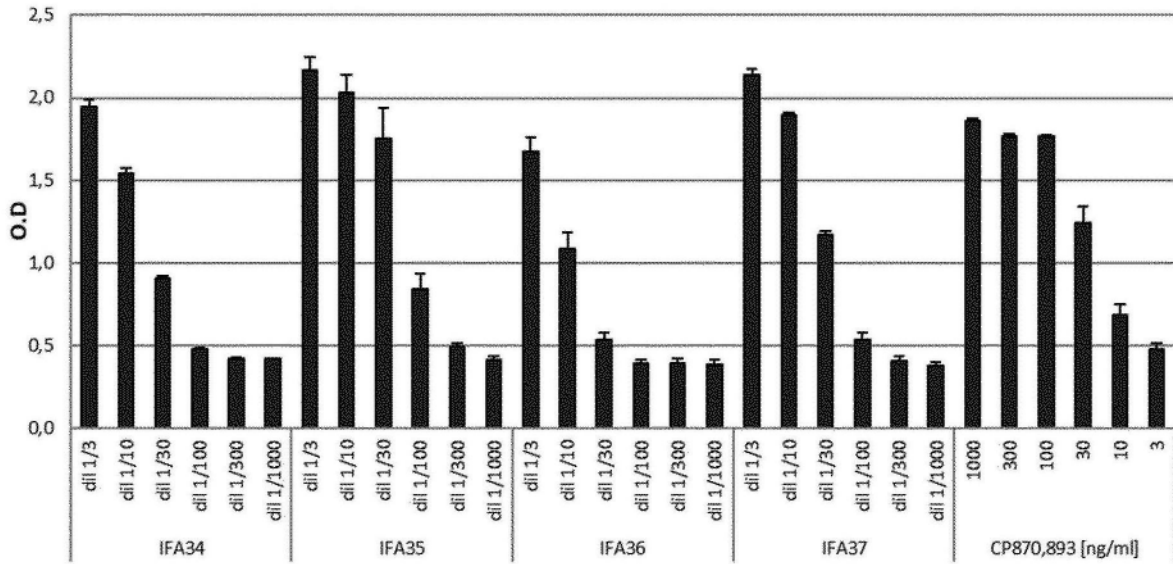


图3B

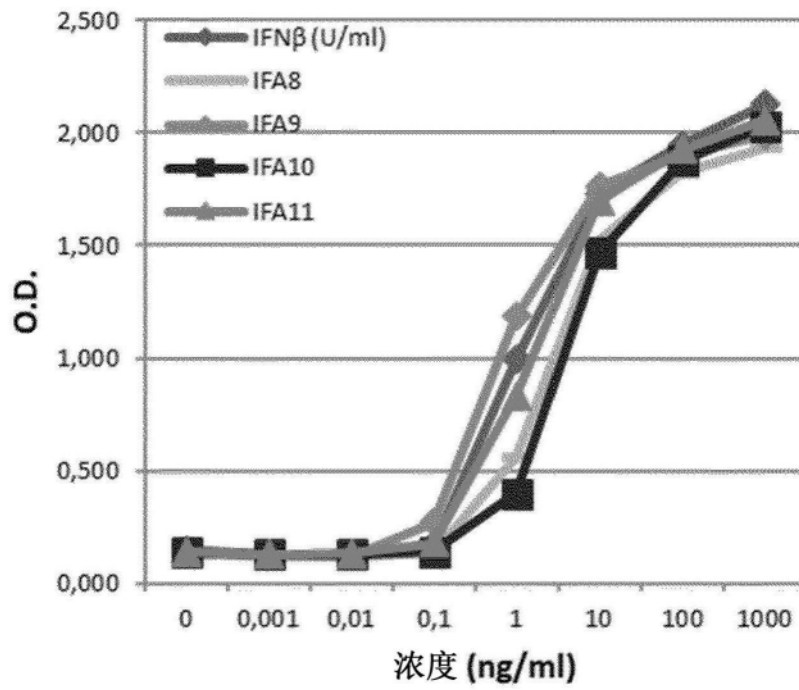
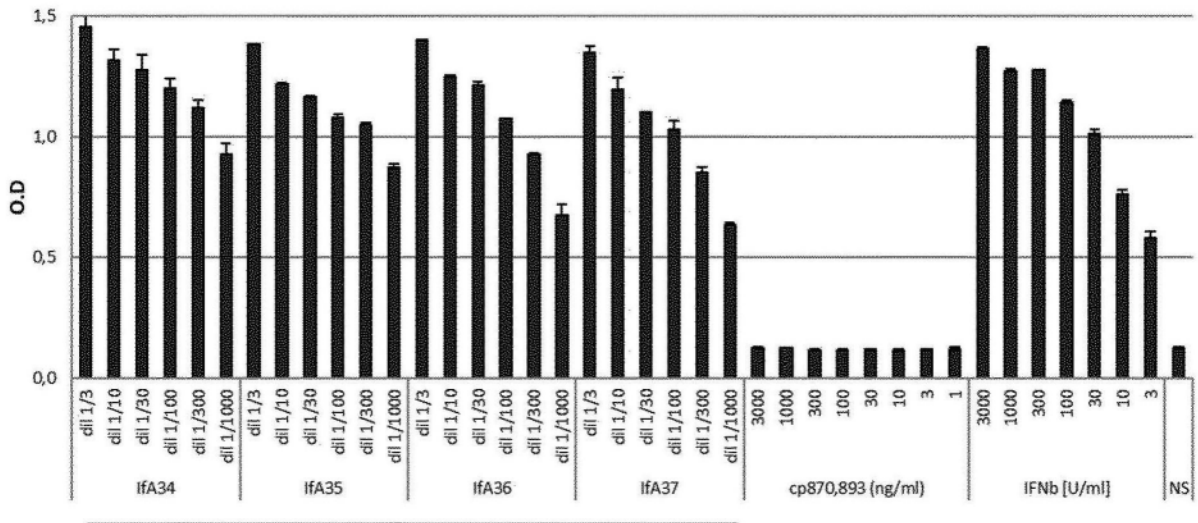


图3C



来自 HEK 转染细胞的上清液

图3D

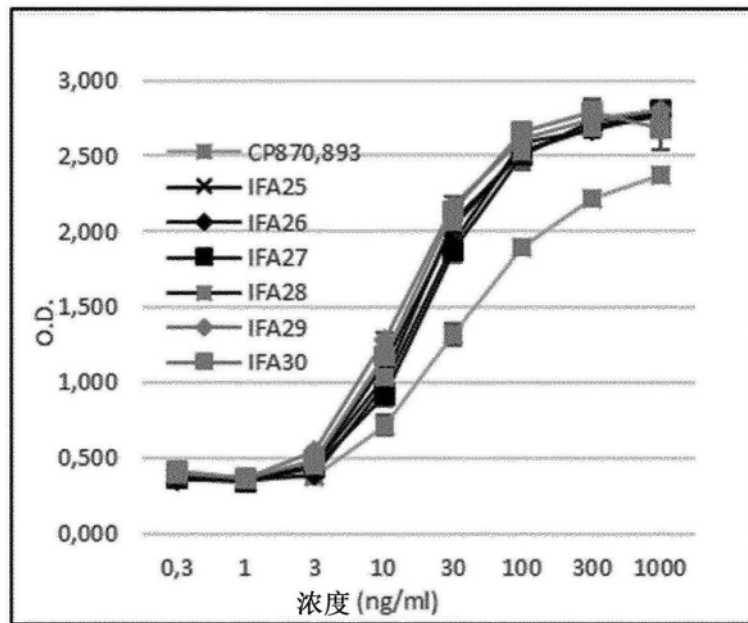


图4A

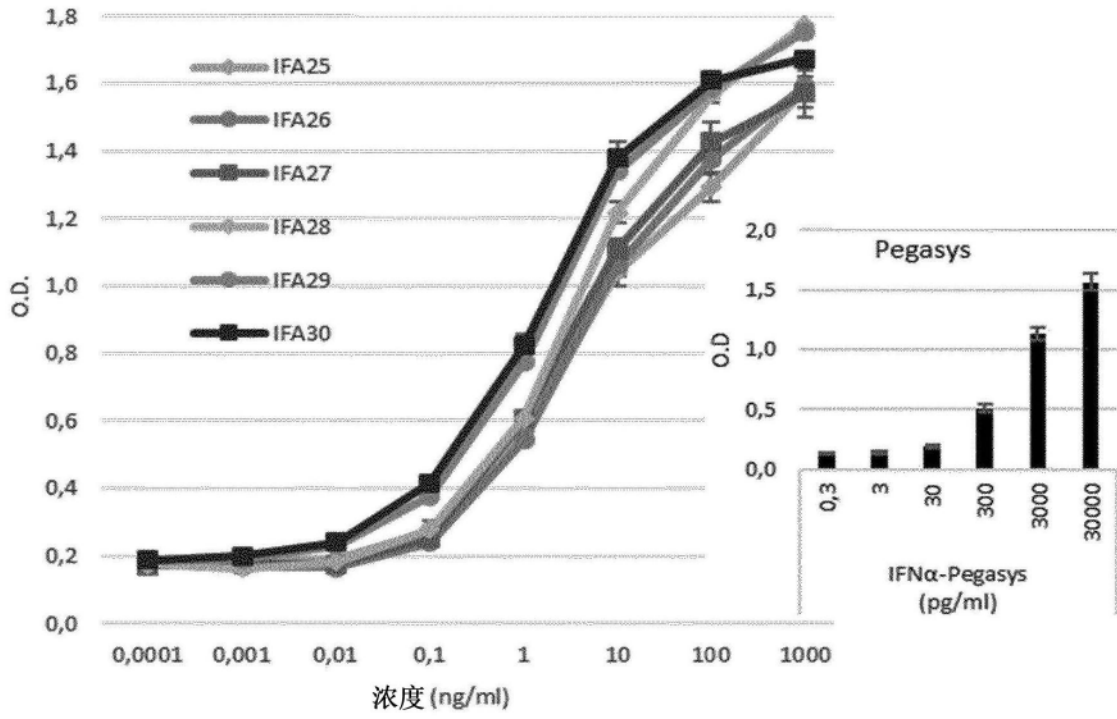


图4B

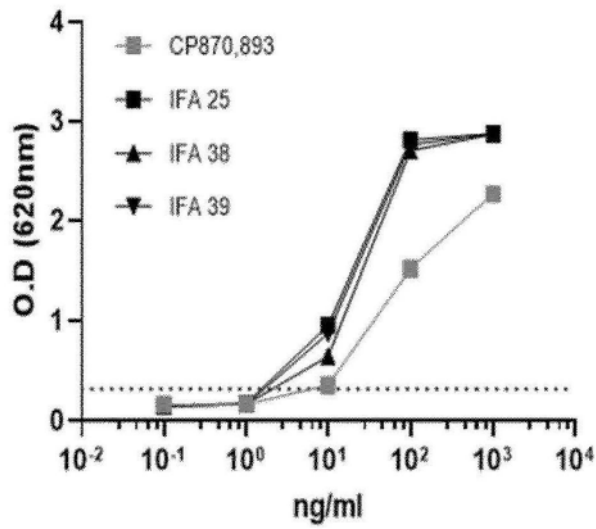


图4C

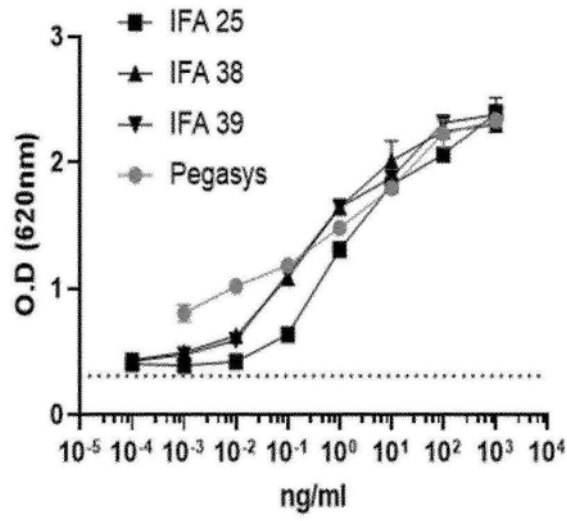


图4D

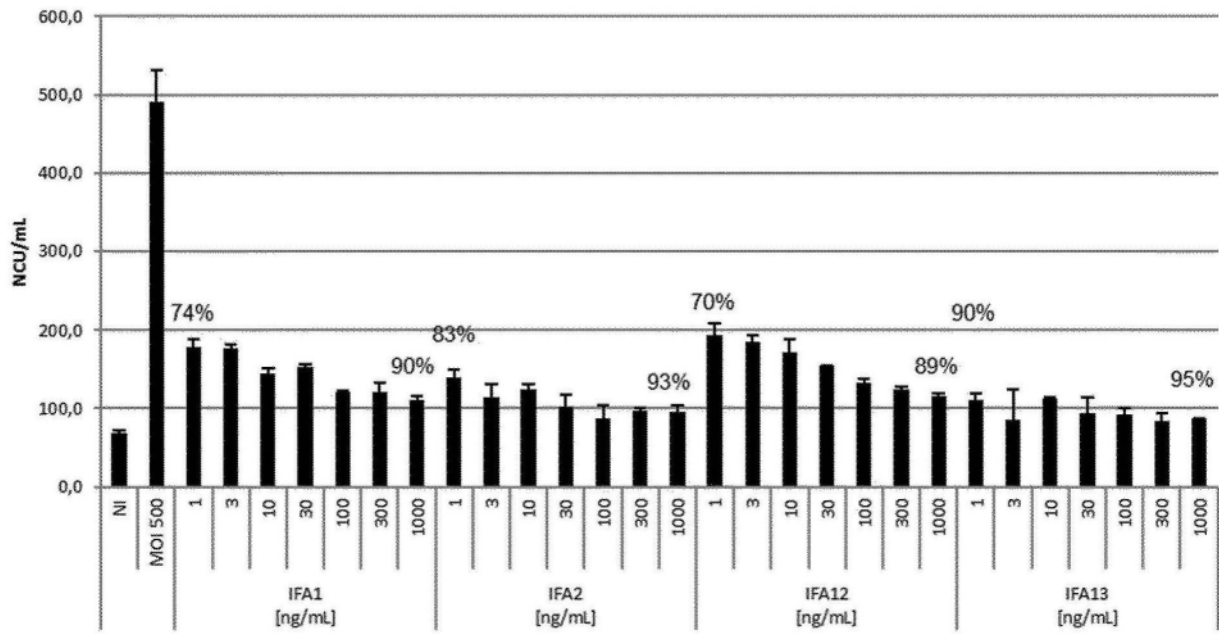


图5

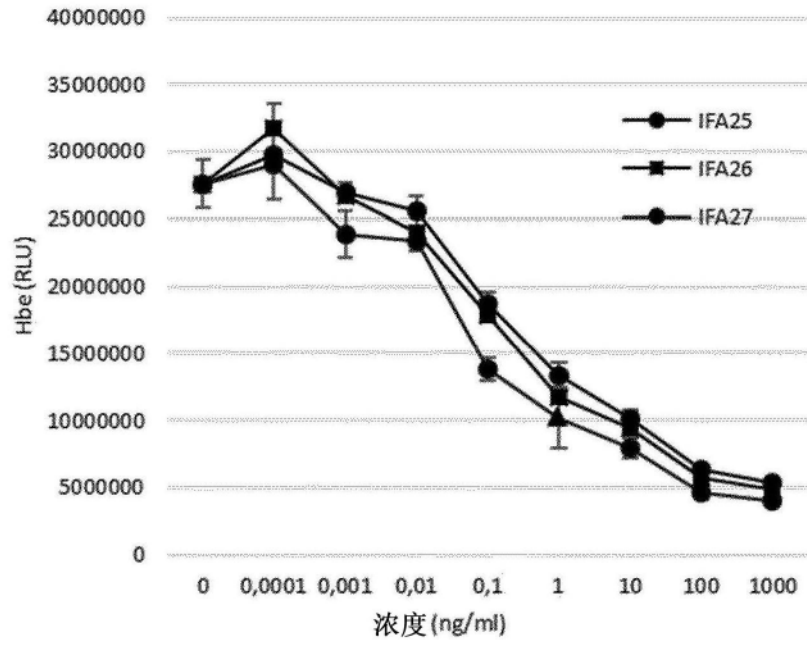


图6A

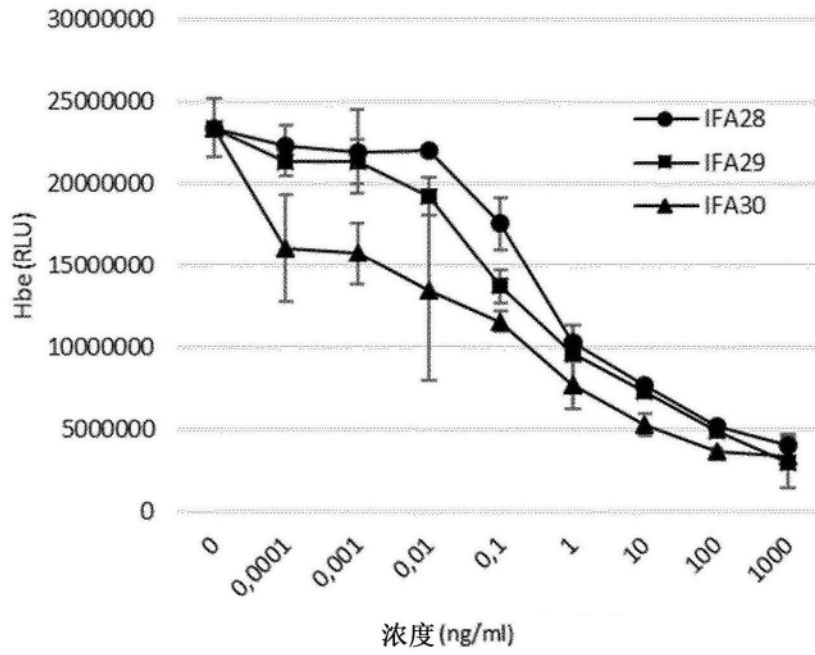


图6B

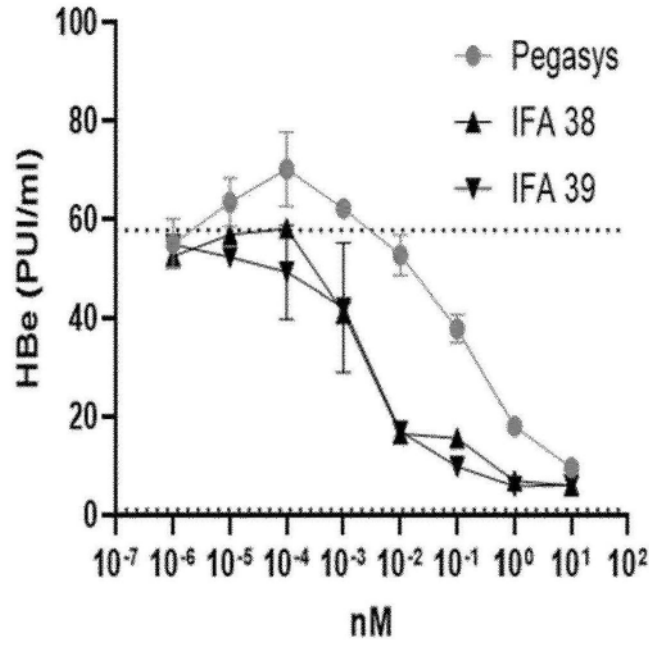


图6C

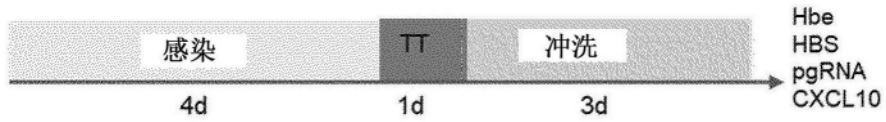


图6D

HBeAg 释放

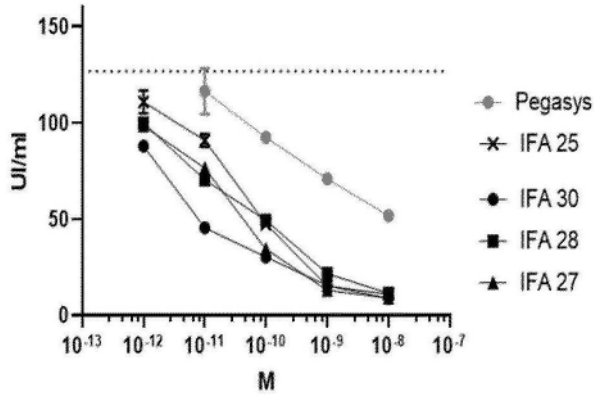


图6E

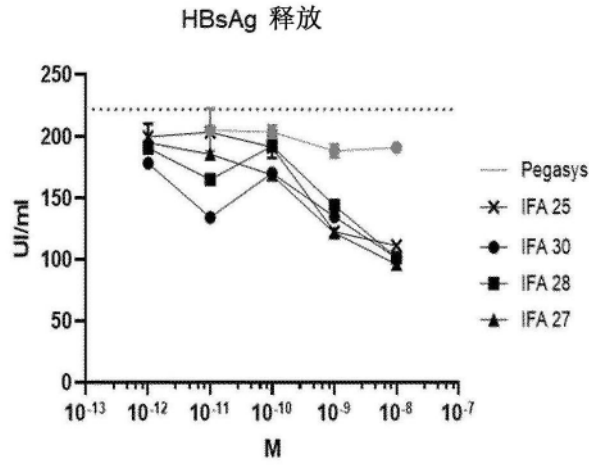


图6F

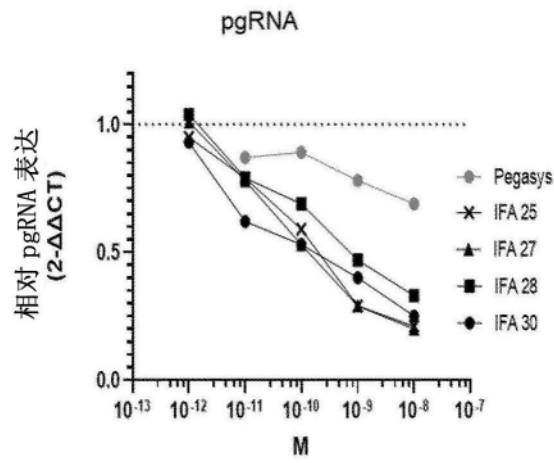


图6G

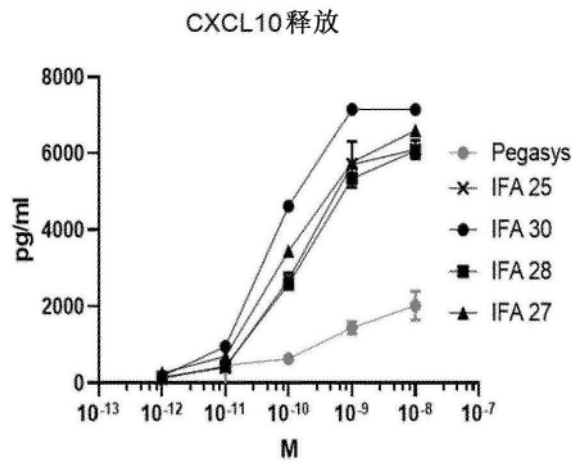


图6H

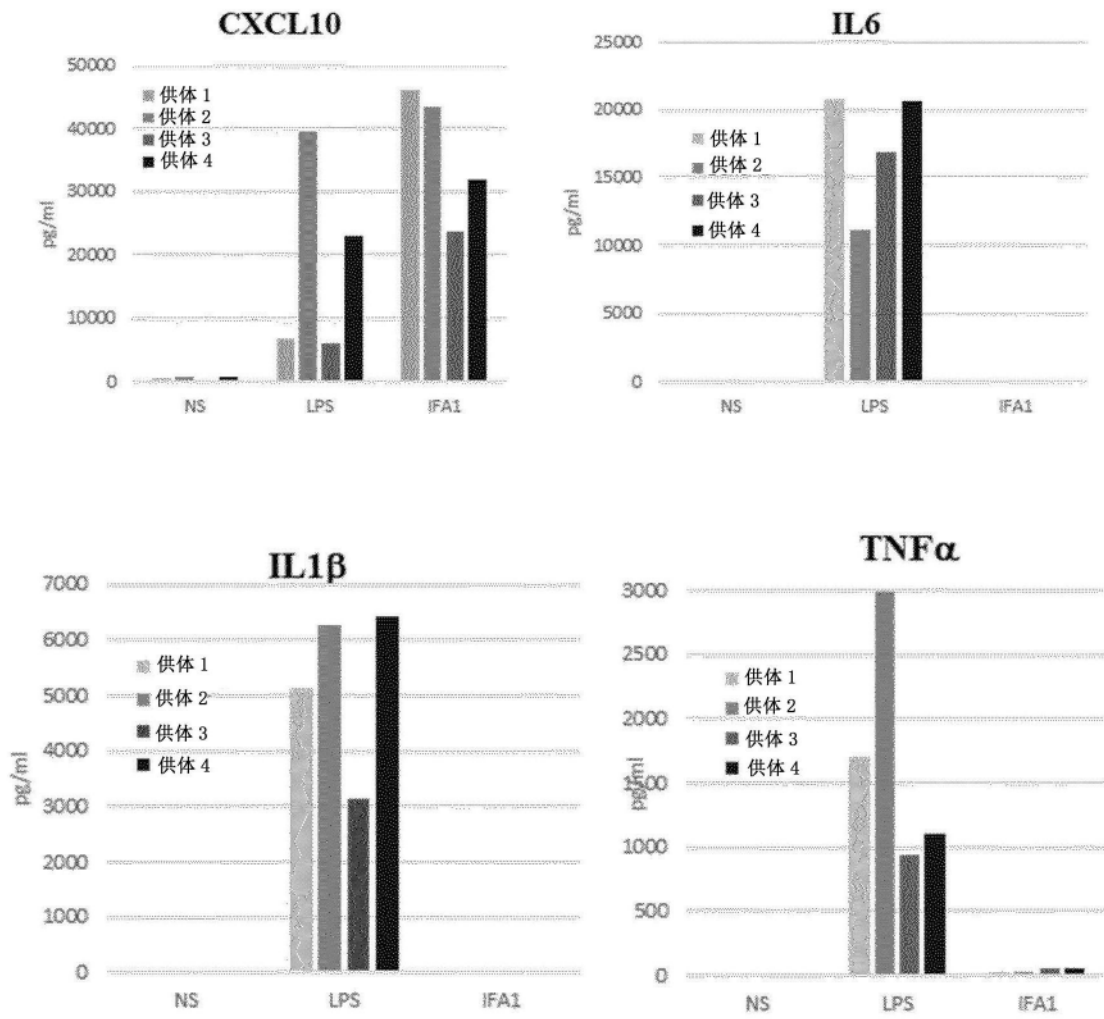


图7

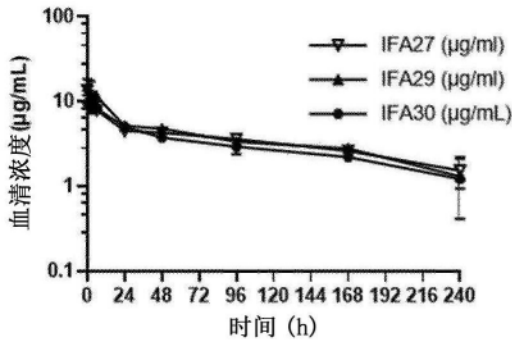
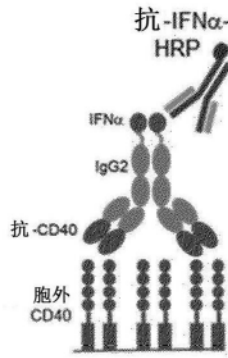


图 8A

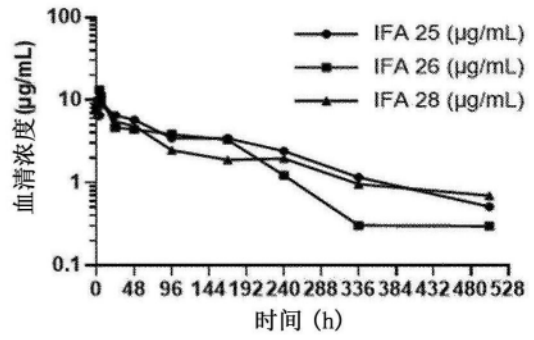


图 8B

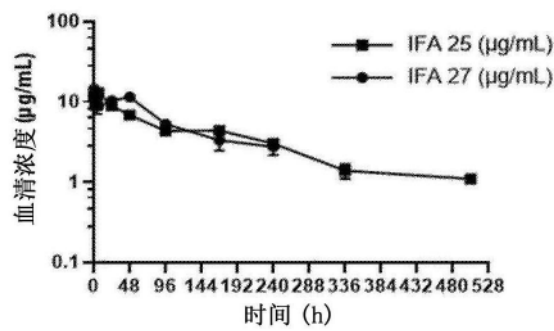
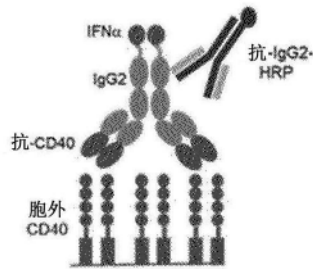


图8C

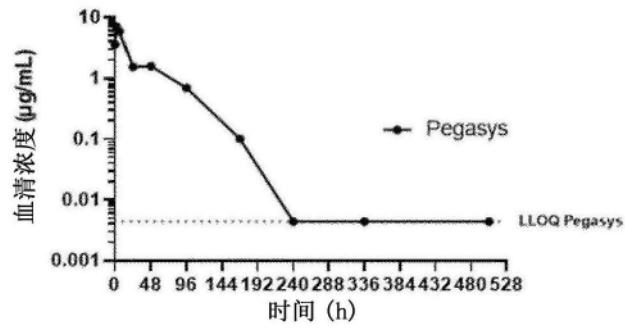
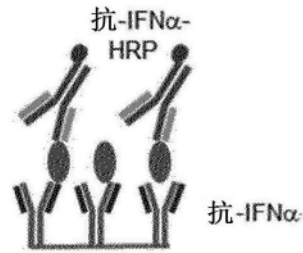


图8D

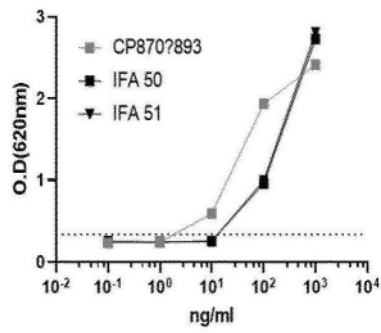


图9A

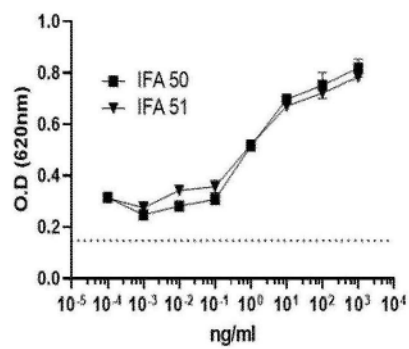


图9B

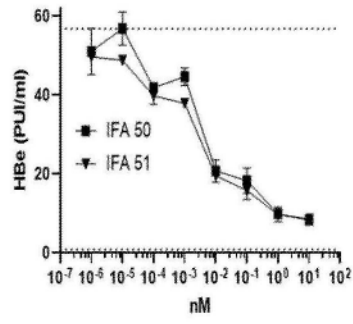


图9C

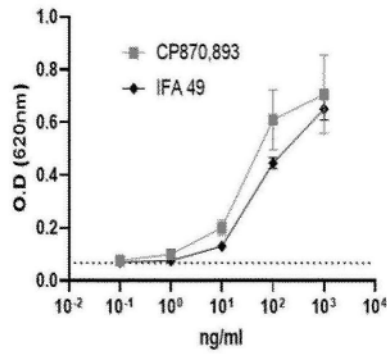


图10A

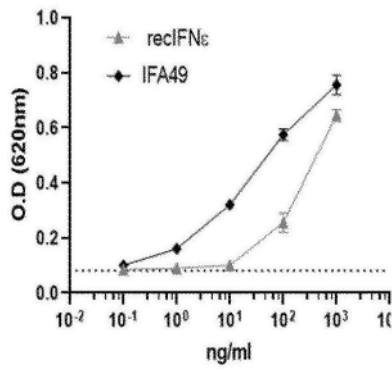


图10B

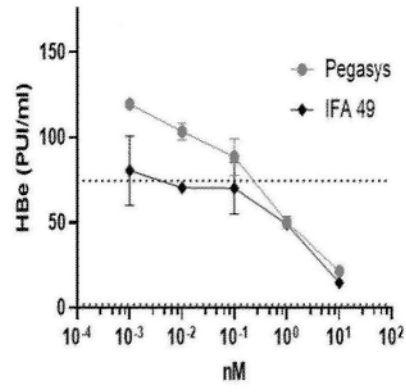


图10C

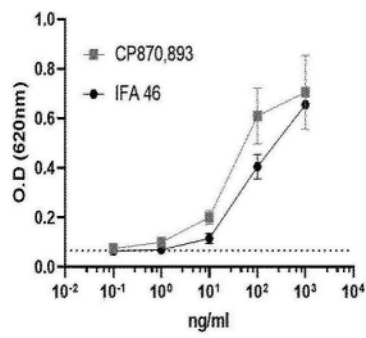


图11A

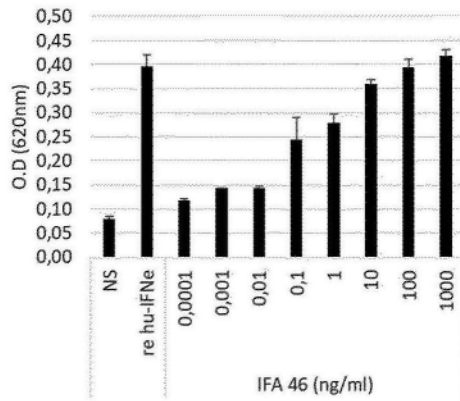


图11B

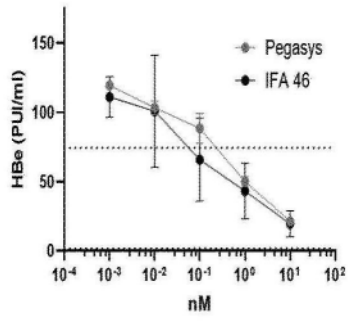


图11C

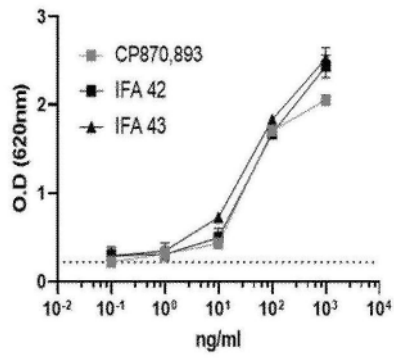


图12A

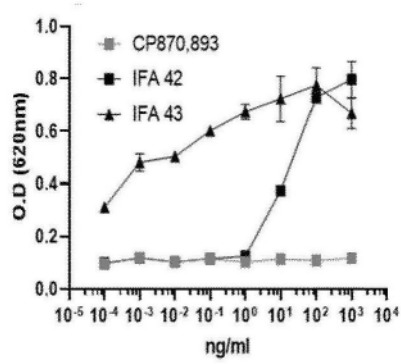


图12B

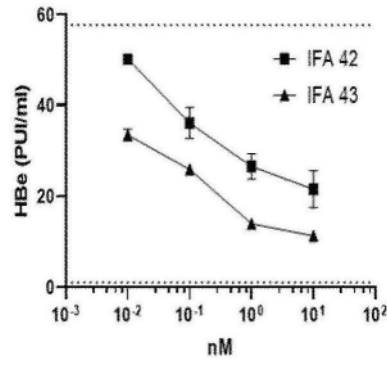


图12C

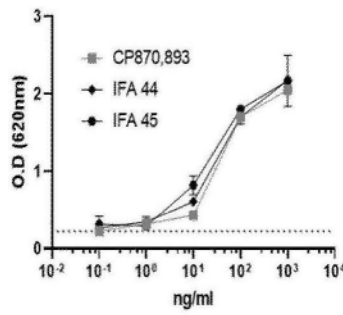


图13A

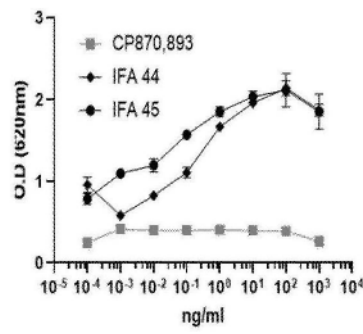


图13B

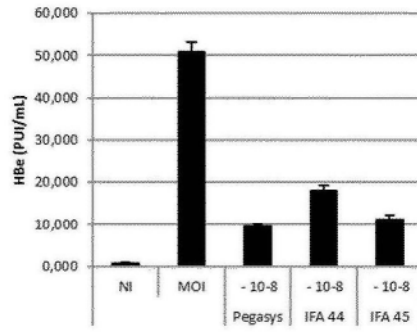


图13C

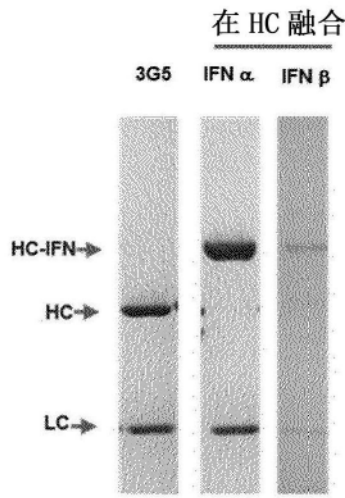


图14

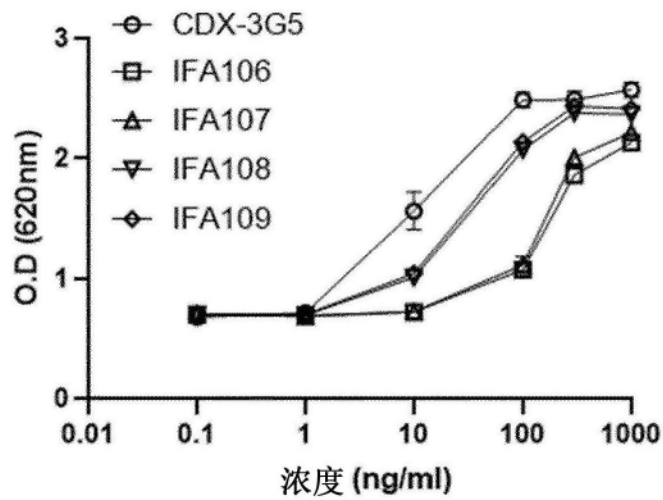


图15A

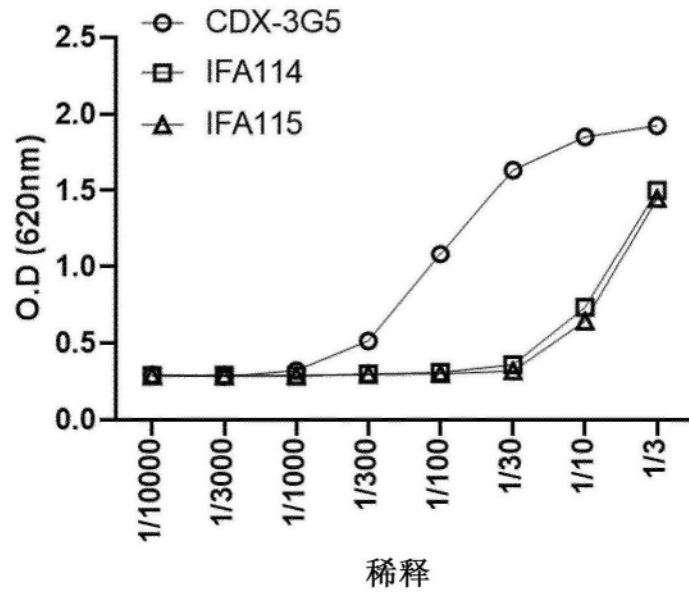


图15B

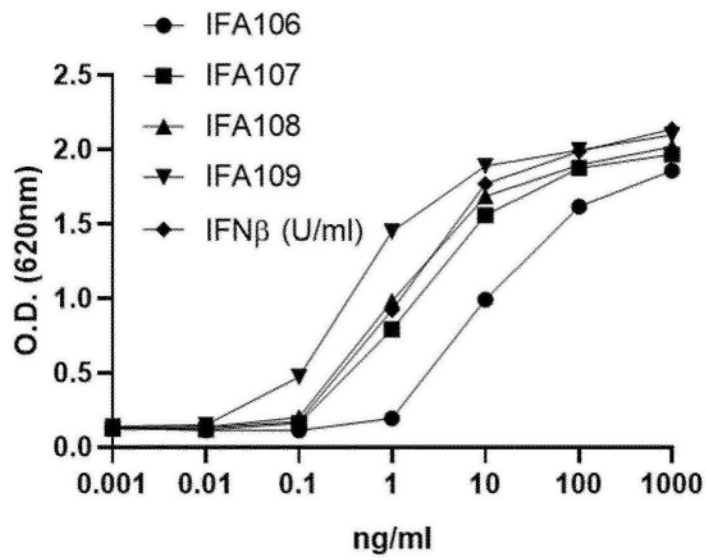


图15C

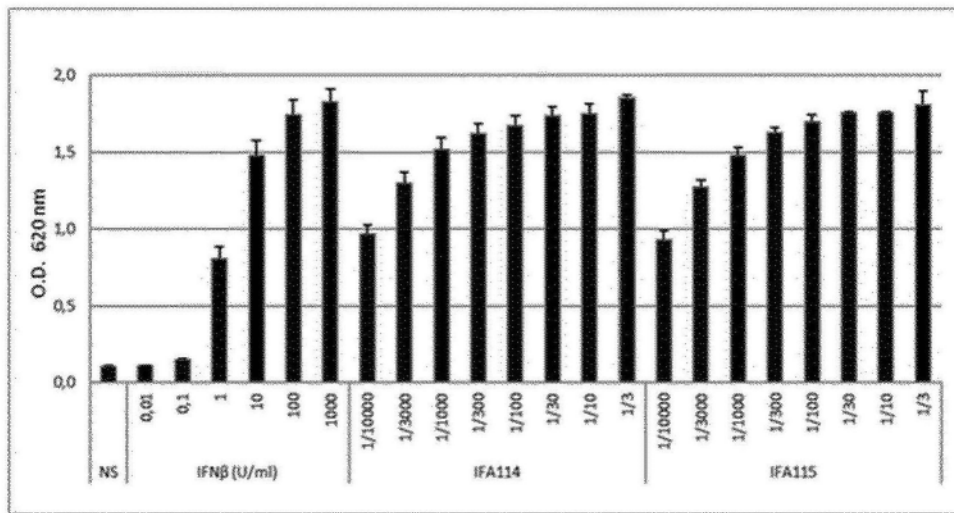


图15D

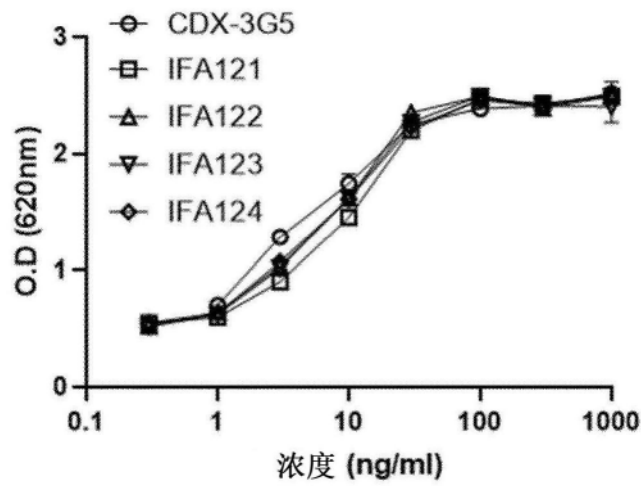


图16A

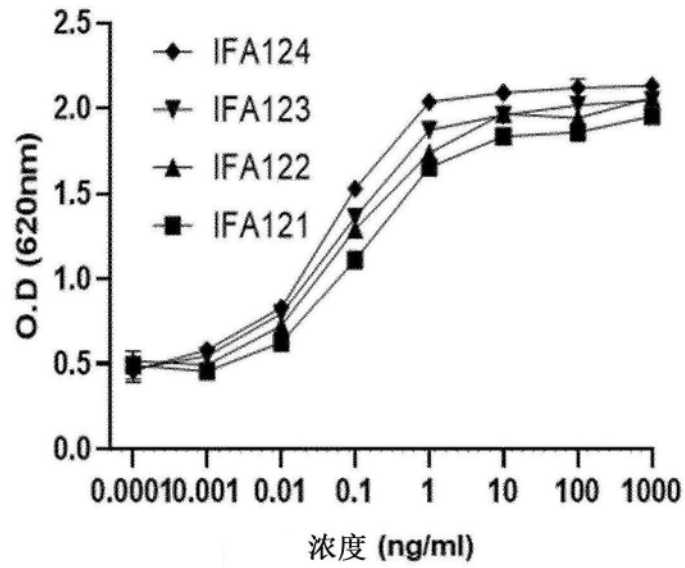


图16B

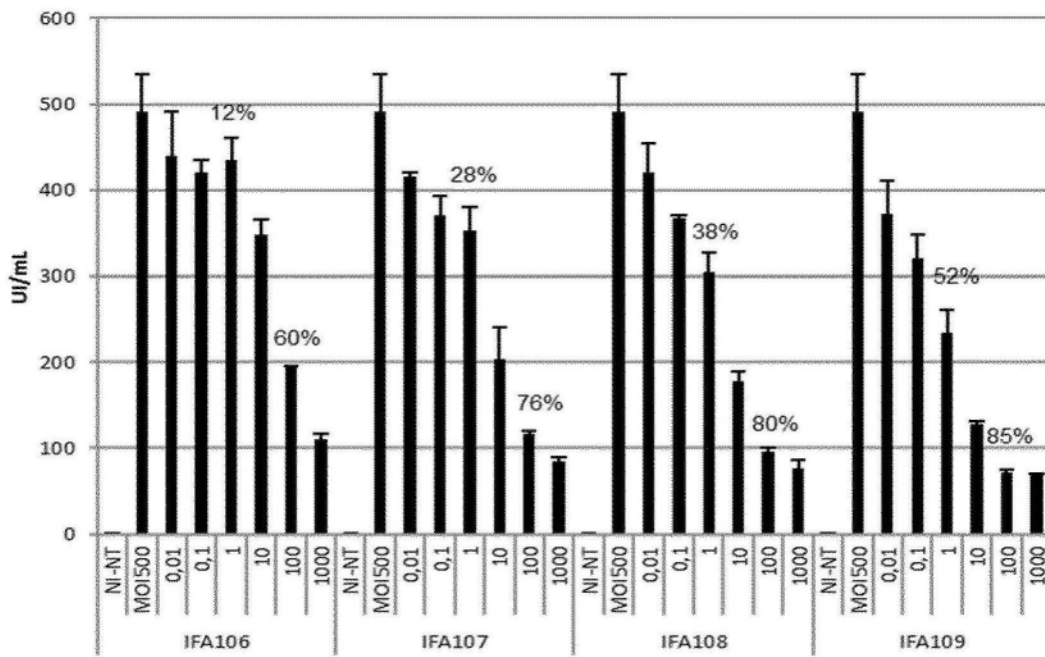


图17A

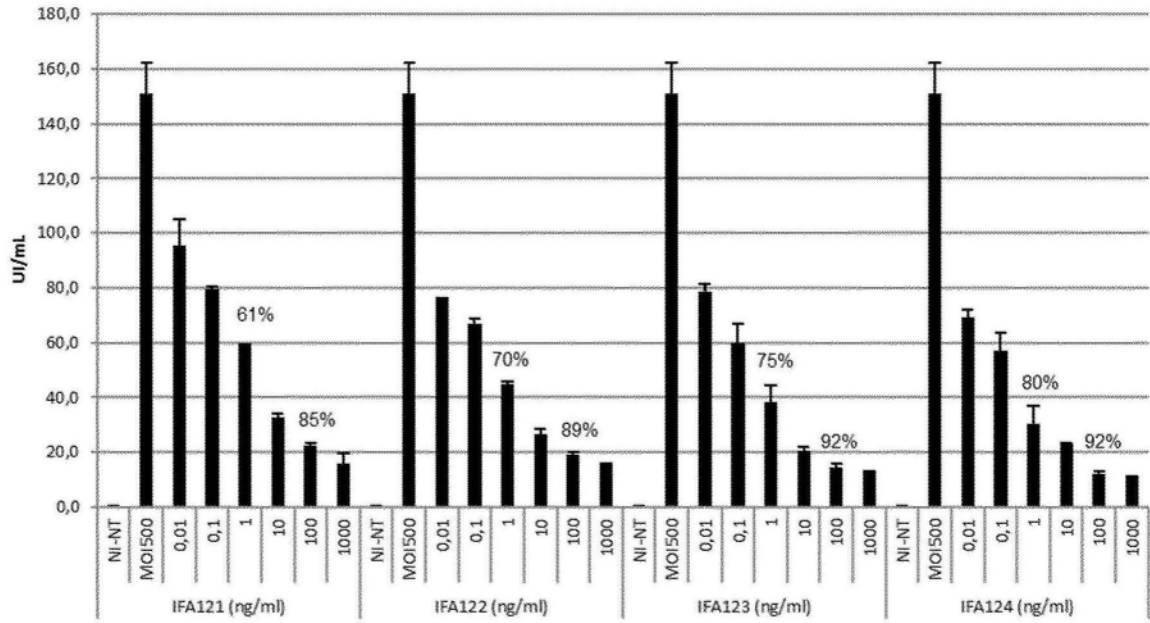


图17B

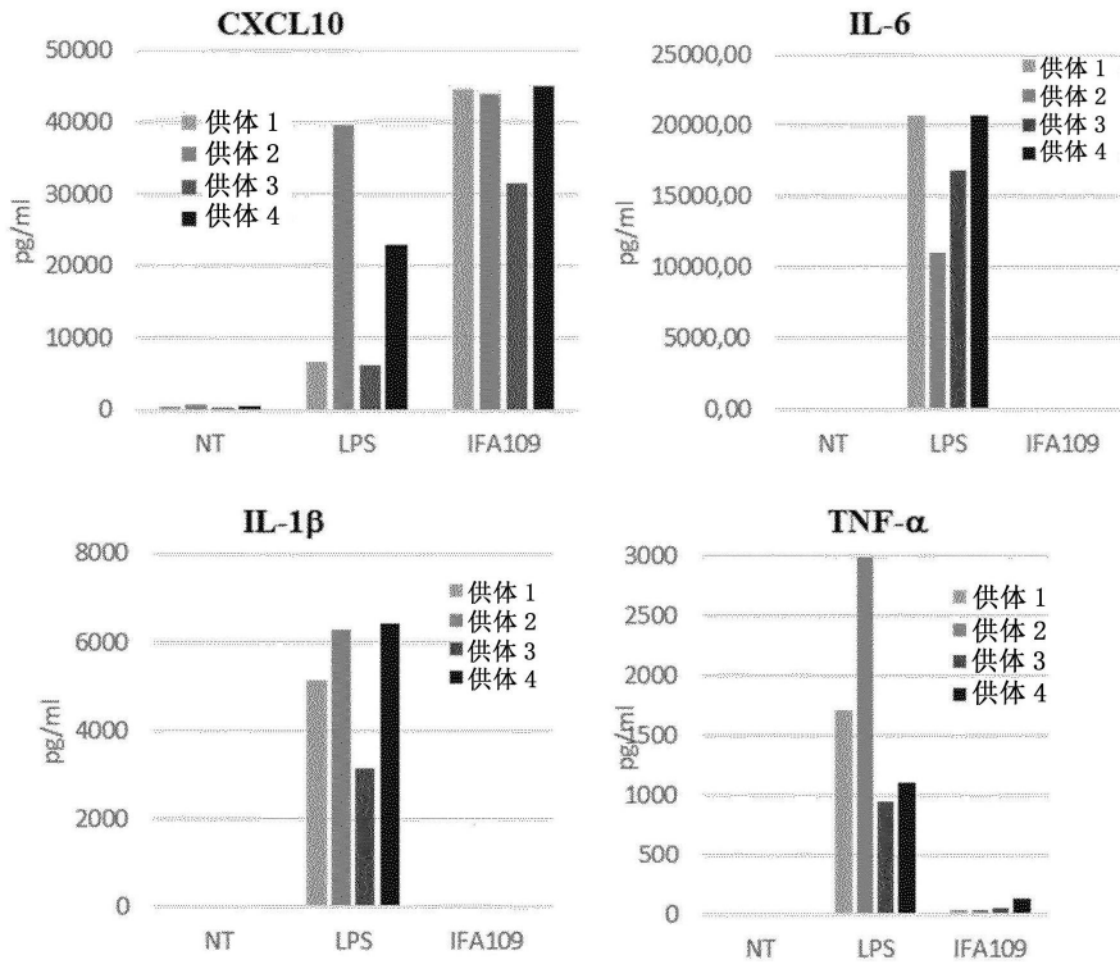


图18